

ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

ETUDE DE LA DISTRIBUTION DES ANTICORPS NEUTRALISANT LA SOUCHE LANSING ET DE L'INCIDENCE DE LA POLIOMYÉLITE AU COURS D'UNE ÉPIDÉMIE HIVERNALE DANS UNE POPULATION ISOLÉE

par V. PAVILANIS et A. FRAPPIER (1).

*(Service des Virus de l'Institut de Microbiologie
et d'Hygiène de l'Université de Montréal.)*

INTRODUCTION.

Plusieurs travaux de grande importance traitant de la présence et de la distribution des anticorps antipoliomyélitiques ont été publiés ces dernières années dans divers pays et particulièrement aux Etats-Unis. Ces travaux démontrent que, dans les pays où sévit la poliomyélite, une grande partie des habitants possèdent des anticorps dans leur sang. La proportion de la population possédant des anticorps antipoliomyélitiques varie avec les groupes d'âge.

Turner et ses collaborateurs [1, 2], étudiant les anticorps antipoliomyélitiques chez les habitants de Baltimore, et Brown et Francis [3] chez ceux du Michigan, ont établi une courbe de

(1) Ce travail a été exécuté avec l'aide du Comité de la Poliomyélite de la Section québécoise de la Légion Canadienne et du Ministère de la Santé de la Province de Québec. (Subvention fédérale provinciale à la recherche sur la Santé Publique).

distribution des anticorps anti-Lansing selon l'âge dans un pays tempéré. Les travaux de Sabin [4] en Extrême-Orient, de Hammon [5] dans les îles du Pacifique, de Gear [6] en Afrique du Sud et ceux de Paul et Riordan [7], montrent que cette courbe diffère selon les climats. Les habitants autochtones de l'Afrique du Sud et ceux des îles du Pacifique acquièrent des anticorps à un âge très précoce, et la population totale des adultes présente des anticorps antipoliomyélitiques dans son sang. Aux Etats-Unis, on a remarqué que les sujets des classes pauvres s'immunisent plus vite et dans une plus grande proportion que leurs compatriotes des classes plus riches. Paul et Riordan [7] ont observé, en étudiant les anticorps antipoliomyélitiques chez les Eskimo de l'Alaska, que les jeunes Eskimo, jusqu'à l'âge de 19 ans, ne possèdent pas d'anticorps anti-Lansing. Par contre, 80 p. 100 des Eskimo, âgés de 20 ans et plus, présentent des anticorps neutralisant cette souche.

Ces travaux montrent qu'il existe un parallélisme entre le pourcentage de la population possédant des anticorps anti-Lansing et la résistance ou la sensibilité de cette population au virus poliomyélitique. Adamson et ses collaborateurs [8], Peart [9] et Rhodes [10] ont décrit une épidémie de poliomyélite qui a sévi parmi les Eskimo habitant au Nord de la province de Manitoba (Canada). Cette épidémie, qui est apparue dans l'hiver de 1948-1949, pendant la saison la plus froide, dans la région arctique canadienne, a frappé la population tout entière : sur 275 habitants, on a observé 51 cas de poliomyélite paralytique, dont 14 (soit 5 p. 100 de la population totale) furent des cas mortels. La grande sensibilité des Eskimo à la poliomyélite est démontrée par le fait que la plus grande morbidité a été observée chez les Eskimo de 40 ans et plus, et qu'il n'y a eu comparativement que très peu de malades de moins de 5 ans. Ces dernières observations confirment en partie celles de Paul et Riordan.

L'ÉPIDÉMIE DE SAINT-AUGUSTIN.

ETAT DÉMOGRAPHIQUE ET CONDITIONS DE VIE A SAINT-AUGUSTIN.
— Quand une épidémie de poliomyélite a sévi en janvier 1950 à Saint-Augustin, village situé dans le nord-est de la province de Québec, nous avons trouvé intéressant de comparer la distribution des anticorps anti-Lansing selon l'âge des habitants avec la répartition de la poliomyélite paralytique dans les mêmes groupes, étant donné que ce village est isolé des autres groupes d'habitations et que la poliomyélite paralytique y a été inexistante pendant les trente dernières années au moins (2).

(2) Communication faite par le Dr Hodd, qui pratique la médecine dans cette région depuis trente ans.

I. — ÉTUDE DE L'ÉPIDÉMIE.

Situation géographique du village. — Saint-Augustin est situé sur la rive nord du golfe Saint-Laurent, près de la frontière Québec-Labrador, au nord du 51° parallèle et entre 58° et 59° de longitude (voir fig. 1 et 1a).

Les habitants. — 417 personnes, toutes de race blanche, dont 198 de 16 ans et plus et 219 de 0 à 16 ans, habitent ce village (voir tableau I et fig. 2). 53 familles occupent des maisons entassées d'un côté de la rivière ; 3 familles seulement ont leurs habitations sur la rive opposée. Au mois de mai ou juin, les hommes partent à la pêche en mer et ne reviennent au village qu'au mois de septembre. En octobre et en novembre, plusieurs hommes vont chasser dans les bois, où ils restent de quatre à six semaines. En décembre et en janvier, les hommes vont à la chasse aux phoques, y restent au moins trois à cinq semaines. Toutes les équipes de travail (de pêche aussi bien que de chasse) sont formées exclusivement d'habitants de Saint-Augustin.

La nourriture. — Celle-ci consiste en viande de phoque, de cerf, d'oiseau ou de poisson, conservée congelée, ou bien en conserves que les habitants achètent au magasin de la Compagnie de la Baie d'Hudson. En outre, les habitants de Saint-Augustin reçoivent des denrées qui leur sont distribuées par les Départements de la Colonisation et des Pêcheries de la province de Québec : beurre, fromage, miel et lait en poudre. La dernière cargaison de beurre et autres aliments était arrivée le 21 octobre. Le 22 novembre est arrivée une autre cargaison de saucisses, viandes, fruits et légumes.

L'eau potable. — Les habitants de Saint-Augustin prennent l'eau potable dans la rivière, à la limite de la marée, ou encore dans des ruisseaux, à la surface. Les chiens (7 à 8 par famille), non seulement boivent et excrètent dans ces lieux, mais ils boivent souvent dans les récipients dans lesquels les villageois conservent leur eau potable.

L'état sanitaire. — Trois familles seulement possèdent des latrines en arrière de leurs maisons. Les autres déposent leurs produits d'élimination dans des récipients qu'ils vident un peu partout dans la nature tout près de leur maison, où les excréments sont dévorés par les chiens.

Les contacts avec le monde extérieur. — Les adultes, ainsi que les enfants de Saint-Augustin, ont été à plusieurs reprises en contact avec des Indiens qui habitent un camp à 3 milles en amont du village. A partir du 21 janvier, date à laquelle le premier cas paralytique fut diagnostiqué, il n'y eut aucun contact entre les villageois et les Indiens. Jusqu'au 21 janvier, les adultes



FIG. 1. — Carte générale de la province de Québec.

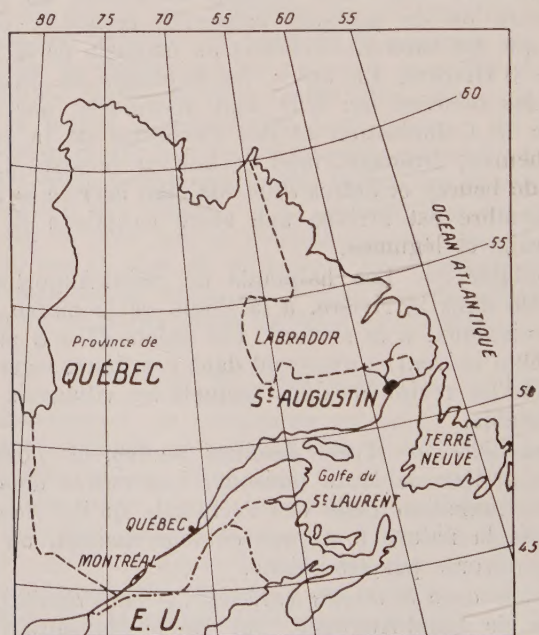


FIG. 1a. — Situation de l'agglomération de Saint-Augustin sur la rive nord du golfe du Saint-Laurent.

et les enfants de Saint-Augustin avaient aussi fréquenté le village Shekatika, situé à 15 milles à l'Est et habité par 20 familles.

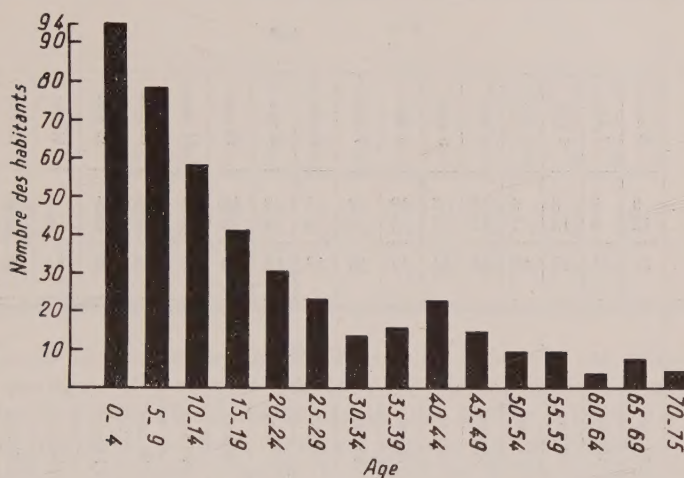


FIG. 2. — Répartition de la population par groupes d'âge.

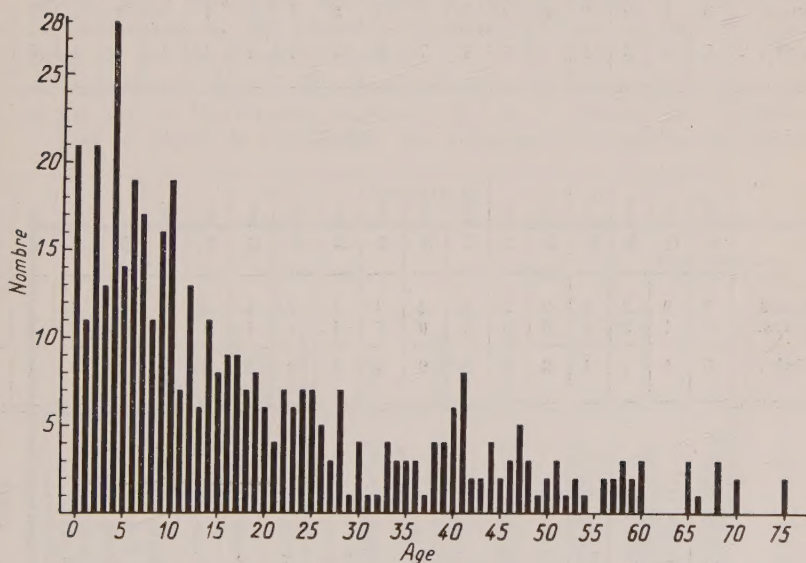


FIG. 2 a — Répartition individuelle, par âge, de la population de Saint-Augustin.

Après l'apparition de la poliomyélite, seuls les adultes de Shekatika sont venus au magasin de Saint-Augustin.

TABLEAU I. — Population de Saint-Augustin.

		AGE																	
		0 an	1 an	2 ans	3 ans	4 ans	5 ans	6 ans	7 ans	8 ans	9 ans	10 ans	11 ans	12 ans	13 ans	14 ans	15 ans	16 ans	17 ans
Hommes		9	5	8	6	15	7	12	8	7	8	10	4	5	4	6	6	6	6
Femmes		12	6	13	7	13	7	7	9	4	8	9	3	8	2	5	2	3	3
Total		21	11	21	13	28	14	19	17	11	16	19	7	13	6	11	8	9	9

		AGE																	
		18 ans	19 ans	20 ans	21 ans	22 ans	23 ans	24 ans	25 ans	26 ans	27 ans	28 ans	29 ans	30 ans	31 ans	32 ans	33 ans	34 ans	35 ans
Hommes		1	4	6	3	3	4	4	4	1	1	3	0	3	1	1	3	3	1
Femmes		6	4	0	1	4	2	3	3	4	2	4	1	1	0	0	1	0	2
Total		7	8	6	4	7	6	7	7	5	3	7	1	4	1	1	4	3	3

		AGE																	
		36 ans	37 ans	38 ans	39 ans	40 ans	41 ans	42 ans	43 ans	44 ans	45 ans	46 ans	47 ans	48 ans	49 ans	50 ans	51 ans	52 ans	53 ans
Hommes		0	0	2	2	3	2	1	2	3	1	2	4	2	1	2	2	1	1
Femmes		3	1	2	2	3	6	1	0	1	1	1	1	1	0	0	1	0	1
Total		3	1	4	4	6	8	2	2	4	2	3	5	3	1	2	3	1	2

		AGE											TOTAL						
		54 ans	55 ans	56 ans	57 ans	58 ans	59 ans	60 ans	61 ans	62 ans	63 ans	64 ans							
Hommes		1		0	2	2	2	2											
Femmes		0		2	0	1	0	1											
Total		1		2	2	3	2	3											
													1	0	0	1	2		222
													2	1	3	1	0		195
													3	1	3	2	2		417

TABLEAU 1a. — Population de Saint-Augustin.

	AGE															TOTAL
	0 à 4 ans	5 à 9 ans	10 à 14 ans	15 à 19 ans	20 à 24 ans	25 à 29 ans	30 à 34 ans	35 à 39 ans	40 à 44 ans	45 à 49 ans	50 à 54 ans	55 à 59 ans	60 à 64 ans	65 à 69 ans	70 à 75 ans	
Hommes . .	43	42	29	23	20	9	11	5	11	10	7	6	2	1	3	222
Femmes . .	51	35	27	18	10	14	2	10	11	4	2	3	1	6	1	195
Total . . .	94	77	56	41	30	23	13	15	22	14	9	9	3	7	4	417

Le 23 novembre, le dernier bateau de la saison est arrivé dans les parages. Il a accosté à Grosse Ile Tickle, située à 6 milles de Saint-Augustin. Plusieurs habitants sont montés à bord. Le prêtre et le marchand de fourrures sont arrivés par ce bateau. Le marchand de fourrures a quitté le village en avion le 23 décembre. Les pilotes de l'avion n'ont pas été en contact avec les villageois. Sept personnes ont visité le village durant la période du 23 décembre au 21 janvier : 3 sont arrivées le 23 décembre, dont 2 de Harrington Harbour et 1 de Baie La Terre ; 2 le 31 décembre, dont 1 de Montréal et 1 de Longue Pointe ; 1 le 6 janvier de Harrington Harbour et 1 le 21 janvier de Tabatière.

Dès le début de l'épidémie, les autorités de l'Institut de Micro-

TABLEAU II.

AGE	POPULATION			SÉRUM ÉTUDIÉ			POURCENTAGE de la population		
	Hommes	Femmes	Total	Hommes	Femmes	Total	Hommes	Femmes	Total
1 à 5 ans . . .	41	46	87	25	23	53	61	61	61
6 à 10 ans . . .	45	37	82	37	32	69	82	86	84
11 à 15 ans . . .	25	20	45	22	20	42	88	100	93
16 à 20 ans . . .	23	16	39	21	16	37	91	100	95
21 à 25 ans . . .	18	13	31	16	13	29	88	100	93
26 à 30 ans . . .	8	12	20	8	12	20	100	100	100
31 à 35 ans . . .	9	3	12	8	3	11	88	100	92
36 à 40 ans . . .	7	11	18	7	10	17	100	90	95
41 à 45 ans . . .	9	9	18	9	8	17	100	88	99
46 à 55 ans . . .	16	5	21	16	5	21	100	100	100
56 à 75 ans . . .	12	11	21	10	7	17	83	64	81
Total . . .	213	183	396	179	154	333	84	84	84

biologie et d'Hygiène de l'Université de Montréal, jugeant que les conditions d'isolement de cette localité favorisaient une étude épidémiologique de la poliomyélite, organisèrent une expédition médicale à Saint-Augustin en vue d'y recueillir des données démographiques et sanitaires et des échantillons pour recherches de laboratoire. Cette expédition, formée par les D^{rs} Bernard Laramée et Paul Brunelle, est arrivée à Saint-Augustin le 4 février, soit un mois après l'apparition du premier cas de poliomyélite et quatorze jours après l'observation des premières paralysies. Trois cent trente-trois échantillons de sérums furent prélevés par ces médecins, ce qui représente les échantillons de toute la population présente en cet endroit, à l'exception des très jeunes enfants, chez qui le prélèvement du sang a été impossible à cause des conditions de vie assez primitives de Saint-Augustin (tableau II).

II. — DESCRIPTION DE L'ÉPIDÉMIE.

L'épidémie a débuté brusquement par 2 cas paralytiques :

Le premier malade, un garçon, R. McK..., âgé de 8 ans, a été atteint le 4 janvier. A ce moment, il avait de la fièvre et ressentait des douleurs à la nuque. L'enfant est resté au lit pendant deux semaines avec une fièvre continue. Le 19 janvier, il s'est rendu compte que son bras gauche était paralysé. Le 21 janvier, il fut examiné par le médecin, qui diagnostiqua la poliomyélite. Le 1^{er} février, l'enfant a été transporté à Montréal.

Le second cas fut un garçon, J. M..., âgé de 7 ans. Le 4 janvier, il avait de la fièvre et des vomissements. Il a gardé le lit trois jours et, le 9 janvier, il est retourné à l'école. Le 21 janvier, il s'est plaint de douleurs dans le bras gauche. L'examen clinique a révélé une paralysie du muscle dentelé gauche.

D'autres cas se sont déclarés le 6 et le 10 janvier. La majorité fut observée entre le 12 et le 28 janvier. Les deux derniers cas datent du 10 février (voir fig. 3 et 4). Pendant cette période, 13 cas paralytiques ont été observés (10 garçons et 3 filles), 5 cas avec des formes méningées (3 garçons et 2 filles), et 15 cas qui peuvent être considérés comme ayant présenté les prodromes de la poliomyélite [6 garçons et 9 filles] (voir tableau 5). Dans l'ensemble, il y a eu 33 cas de poliomyélite, y compris les formes bénignes, ce qui représente 8 p. 100 de la population totale ; 18 cas de poliomyélite à formes paralytiques et méningées graves diagnostiquées cliniquement, ce qui représente 4,4 p. 100 de la population totale. Pendant cette épidémie, on a enregistré 2 cas mortels seulement, soit 0,5 p. 100 de la population (6,1 p. 100 des malades). Ces 2 cas sont :

Cas n° 1. — J. L..., garçon de 7 ans ; le 12 janvier, il présente une fièvre qui persiste deux jours ; le 14 janvier, l'enfant retourne à l'école ; le 18 janvier, au cours d'une réunion d'enfants, il se sent brusquement mal, vomit, éprouve des douleurs à la nuque et dans les genoux. Le 19 janvier, il ne peut plus marcher. Le 20 janvier, les parents s'aperçoivent que l'enfant a de la difficulté à respirer. Le 21 janvier, à l'examen clinique, on diagnostique une paralysie des deux jambes et

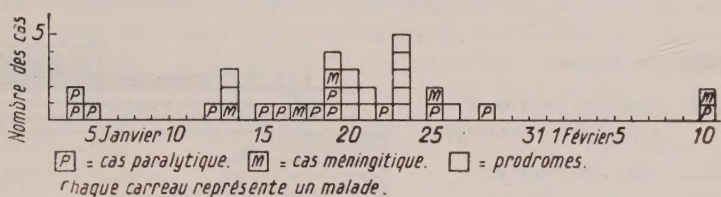


FIG. 3. — Chronologie épidémiologique de la poliomyélite à Saint-Augustin.

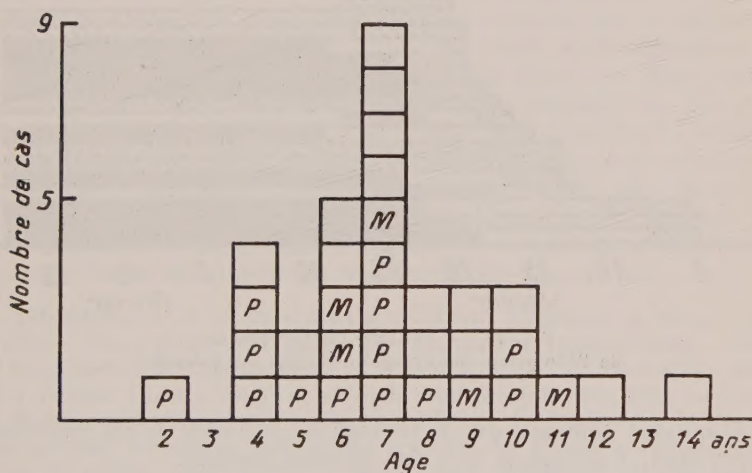


FIG. 4. — Symptomatologie et répartition des malades par groupes d'âge.

une respiration superficielle, mais régulière, utilisant les muscles accessoires. Le 22 janvier, l'enfant est transporté à Québec, et il meurt le 24 janvier de paralysie bulbaire.

Cas n° 2. — Garçon F. D..., âgé de 10 ans. Le 16 janvier, l'enfant présente de la fièvre, des vomissements, des maux de tête, accompagnés de douleurs à la nuque. Le 18 janvier, il va mieux, assiste à une réunion d'enfants, mais doit la quitter à cause de vomissements. Le 21 janvier, la température atteint 99,4° F (39,4° C), le pouls 139. Il présente une raideur de la nuque. Le 24 janvier, les réflexes abdominaux et rotuliens

sont absents. La respiration est superficielle, rapide et irrégulière. L'enfant meurt d'insuffisance respiratoire.

Les autres enfants malades ont présenté des symptômes tels que fièvre, vomissements, raideur de la nuque, paralysies, céphalées et douleurs dans la nuque, rhume et malaise général (tableau III). On a observé 6 cas de paralysie des jambes, 3 de paralysie des muscles respiratoires, 2 de paralysie

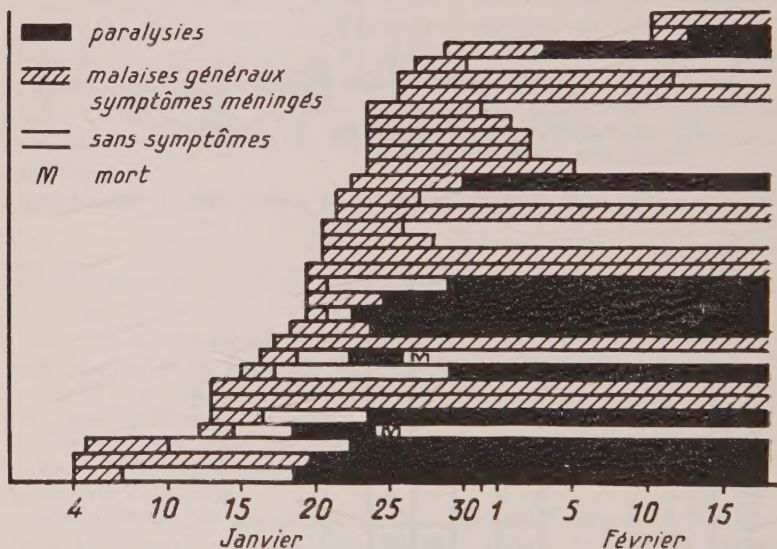


FIG. 4a. — Tableau chronologique de l'évolution des symptômes chez les malades.

des muscles abdominaux, 1 du muscle pectoral, 1 des membres supérieurs, 1 du palais et 1 des muscles faciaux.

TABLEAU III. — Symptômes cardinaux pendant l'épidémie de Saint-Augustin.

1. Fièvre.	26 cas.
2. Vomissements.	16 —
3. Raideur de la nuque	15 —
4. Paralysies.	13 —
5. Céphalées.	9 —
6. Douleurs de la nuque.	6 —
7. Malaises.	6 —
8. Rhume	2 —

Pendant l'épidémie, 15 enfants ont été malades au moins pendant un jour, sans avoir toutefois présenté aucun symptôme caractéristique et ils ne sont pas comptés dans le nombre total

des poliomyélitiques. Parmi les autres maladies qui ont servi au moment de l'épidémie, il faut mentionner : l'amygdalite folliculaire (2 cas), la pneumonie (3 cas), ainsi que quelques infections superficielles et légères, dues au staphylocoque.

Répartition des malades par familles. — Il y a eu : 1 seul cas dans 12 familles, 2 cas dans 5 familles, et enfin 3 cas dans 3 familles.

Propagation de l'épidémie aux villages voisins. — Un enfant indien âgé de 6 ans, habitant un camp à 3 milles en amont de Saint-Augustin, a contracté la poliomyélite (forme paralytique) le 10 février. Les habitants de ce camp sont restés en contact avec des personnes de Saint-Augustin jusqu'au 21 janvier. Il est possible que 3 autres enfants aient manifesté des prodromes poliomyélitiques.

Au début de février, un cas probable (forme méningée ?) apparut dans un autre camp d'Indiens, situé à 30 milles de Saint-Augustin. Les habitants de ce camp n'avaient pas été en contact avec les villageois, à l'exception d'une femme qui a passé un mois à Saint-Augustin et a rejoint son camp le 26 décembre.

Examens de laboratoire. Isolement du virus. — Nous avons tenté d'isoler le virus dans les selles des malades ou des personnes qui avaient été en contact avec eux. Tous les isolements ont été faits suivant la méthode d'extraction du virus poliomyélique par l'éther selon la technique de Lépine [41]. Sur 12 échantillons examinés, il a été possible de démontrer la présence du virus poliomyélique dans les selles de 4 individus. Les expériences furent effectuées sur des singes *Macacus rhesus*.

Echantillon n° 2. — Provenant d'un enfant présentant la forme paralytique. Deux *rhesus* ont subi une inoculation intracérébrale, suivie d'inoculations intrapéritonéales et intranasales de cet échantillon traité par l'éther. Un des singes a présenté une paralysie des deux membres inférieurs le huitième jour après l'inoculation. Le lendemain, le singe a été sacrifié. L'examen histologique a révélé des lésions caractéristiques dans la moelle. Trois *Macacus rhesus*, trois sigmodons et huit souris, inoculés avec la moelle du singe paralysé, n'ont présenté aucun symptôme de maladie au cours d'une observation de trente jours.

Echantillon n° M 18. — Provenant d'un enfant de 4 ans qui n'a pas fait de maladie clinique et qui ne possédait pas d'anticorps neutralisant la souche Lansing dans son sang. Un des deux *rhesus*, inoculés avec cet échantillon, a été paralysé le vingt et unième jour après l'inoculation. Les coupes histologiques ont révélé des lésions caractéristiques dans la moelle. La moelle provenant de ce singe fut inoculée à 3 *Macacus*, 3 sigmodons et 8 souris. Tous les animaux sont restés en bonne santé pendant la période d'observation.

Echantillon n° 403. — Provenant d'un garçon indien, S. L..., âgé de 6 ans, habitant le camp indien à 3 milles de Saint-Augustin. Cet enfant

a fait une paralysie faciale et une paralysie du nerf glossopharyngien. Les selles avaient été prélevées le cinquième jour de la maladie. Ces selles, traitées à l'éther, ont été inoculées à deux singes (N^{os} 17-18). Le singe n^o 17 s'est paralysé le quinzième jour après l'inoculation. L'examen histologique a révélé des lésions caractéristiques de poliomyélite antérieure dans la moelle. La moelle du singe n^o 17 a été inoculée à 3 macaques (n^{os} 44, 45, 46), 3 sigmodons et 8 souris. Le singe n^o 44 a présenté une faiblesse des membres supérieurs le douzième jour et, le treizième jour, il a été trouvé mort. A l'examen histologique : lésions caractéristiques de poliomyélite. Tous les autres animaux n'ont présenté aucun symptôme de maladie pendant les trente jours d'observation.

Echantillon n^o 404. — Provenant de Syl. L..., âgé de 10 ans, frère du garçon indien malade. Jusqu'au prélèvement de l'échantillon, le garçon n'avait présenté aucun symptôme de poliomyélite. Les selles, traitées par l'éther, ont été inoculées à deux singes (n^{os} 3 et 4). L'un d'eux (n^o 3) se paralysa le quatorzième jour et fut sacrifié le quinzième jour. Sa moelle a été inoculée à 3 singes (n^{os} 40, 41, 43), 3 sigmodons et 8 souris. Le douzième jour, le singe n^o 41 a présenté une paralysie bilatérale des deux membres inférieurs. L'animal fut sacrifié le treizième jour. L'examen histologique révéla des lésions caractéristiques. Les autres animaux n'ont pas contracté la poliomyélite. (Nous poursuivons toujours l'étude de ces souches ainsi que la recherche du virus dans les autres échantillons.)

III. — RÉPARTITION DES ANTICORPS.

A. TECHNIQUE.

Le sérum : Le sang, après avoir été prélevé stérilement à Saint-Augustin, fut transporté à Montréal, où nous avons recueilli le sérum pour le congeler à -40°C . Au moment de l'emploi, le sérum est décongelé à la température du laboratoire.

Le virus : Le virus employé est la souche Lansing que MM. Francis et Brown, de Ann Arbor, ont eu l'amabilité de nous envoyer. Cette souche, diluée à 1 p. 20, tue 90 p. 100 des souris ; la LD_{50} est égale à $10^{-2.5}$. Nous avons préparé l'émulsion du virus employée pour ces expériences de la façon suivante : un grand nombre de souris, pesant 18 g, sont inoculées par voie cérébrale et sacrifiées le cinquième jour après l'inoculation. Le cerveau et la moelle sont prélevés stérilement, broyés au mortier et dilués au 1/10 dans l'eau physiologique tamponnée à pH 7. Ensuite, l'émulsion est centrifugée à 3 000 tours/minute, pendant trente minutes dans la centrifugeuse internationale réfrigérée. Le liquide surnageant est réparti en ampoules et congelé à -40°C . Au moment de l'emploi, une ampoule est décongelée dans un bain à la température du laboratoire.

Pour le test de neutralisation, le sérum est dilué à 1/2,5, 1/10 et 1/40 dans l'eau physiologique tamponnée. On mélange 0,25 ml de sérum dilué avec 0,25 ml de l'émulsion du virus au 1/10. La dilution finale du sérum est 1/5, 1/20 et 1/80 ; celle du virus, 1/20. Le mélange sérum-virus est bien agité et gardé trois heures sur la table de laboratoire. Après ce temps

et pour chaque mélange, 8 souris de 18 à 20 g sont inoculées par voie intra-cérébrale. Les souris restent en observation pendant trente jours.

Appréciation du degré de positivité. — En étudiant nos résultats, nous avons trouvé qu'il est difficile de comparer le degré de positivité des sérums, si l'on ne se base que sur le nombre de souris survivant à l'infection de la première dilution, comme le faisaient Brown et Francis [3]. Pour cette raison, nous avons adopté la formule de Reed et Muench [12] proposée par Hammon [13] pour l'appréciation du taux de neutralisation. En suivant ces méthodes, nous avons conclu que tous les sérums qui, dans la dilution au 1/5, ne donnent pas de protection cumulative plus grande que 50 p. 100 sont négatifs. Tous les sérums qui, dilués au 1/5, donnent plus de 50 p. 100 de protection, et qui, dilués au 1/80 donnent moins de 30 p. 100 de protection, sont considérés comme faiblement positifs ; et tous les sérums qui, dilués au 1/5, donnent plus de 50 p. 100 de protection et qui, dilués au 1/80, plus de 30 p. 100 de protection, sont considérés comme fortement positifs. Le sérum A (voir tableau IV) est considéré comme fortement positif (+ +), le sérum B, comme faiblement positif (+), et le sérum C, comme négatif (0).

TABLEAU IV.

EXEMPLE	MORT	SURVIE	SURVIE (corrigée d'après survie témoins)	TAUX cumulatif		POURCENTAGE de protection	
				Mort	Survie		
Sérum A. 1/5. .	2	6	5	2	16	88	++
1/20. .	1	7	6	3	11	77	
1/80. .	2	6	5	5	5	50	
Sérum B. 1/5. .	2	6	5	2	10	83	+
1/20. .	4	4	3	6	5	45	
1/80. .	5	3	2	11	2	15	
Sérum C. 1/5. .	5	3	2	5	5	50	0
1/20. .	5	3	2	10	3	23	
1/80. .	6	2	1	16	1	6	
Témoins virus. .	7	1					

Tous les tests de neutralisation dans lesquels les sérums ont montré une irrégularité quelconque ont été refaits. Ainsi, quand parmi les 8 souris témoins inoculées avec le virus seul, il y avait plus d'une survivante, nous répétions toute l'expérience.

Mortalité non spécifique. — Avec certains sérums, surtout avec les sérums faiblement positifs, nous avons observé au cours du test de neutralisation des irrégularités de mortalité qui se sont reproduites dans les expériences que nous avons répétées. Pour en rechercher la cause, nous avons choisi 39 sérums, divisés en trois groupes, le premier

groupe étant formé par les sérums négatifs, le second par les sérums faiblement positifs, et le troisième par les sérums fortement positifs. Nous avons répété l'expérience de neutralisation de la souche Lansing par ces sérums en ajoutant en outre des souris témoins du virus, des souris inoculées avec les mêmes sérums dilués dans l'eau physiologique, ainsi que des souris inoculées avec un mélange des mêmes sérums dilués et d'une émulsion de cerveau dilué au 1/10 provenant de souris normales. Sur 2 300 souris qui ont servi de témoins (sérum seul ou sérum + cerveau normal), 355 sont mortes pendant l'observation de trente jours. Ce qui montre que la mortalité non spécifique atteint en moyenne 15,4 p. 100. Young et Merrell [14], dans leurs expériences sur la neutralisation du virus Lansing, ont constaté une mortalité non spécifique égale à 13,1 p. 100 et qui varie pour les diverses souches de souris entre 14,4 et 9,8 p. 100. Etant donné que l'observation de Young et Merrell a porté sur des souris non inoculées et duré vingt et un jours seulement, la mortalité non spécifique trouvée dans notre laboratoire n'est pas plus élevée que celle rapportée par les expérimentateurs de Baltimore.

Il est intéressant de souligner que la mortalité non spécifique la plus grande et la plus irrégulière apparaît chez les souris inoculées avec des sérums faiblement positifs. Elle varie entre 2 p. 100 et 42 p. 100 (voir tableau V). Etant donné qu'un grand nombre de sérums normaux mani-

TABLEAU V. — **Mortalité spécifique et non spécifique chez les souris inoculées avec divers sérums.**

	SÉRUM ET VIRUS			TÉMOINS			TÉMOINS		
	Lansing			Sérum dilué			Sérum et émulsion de cerveau normal		
Dilution du sérum	1/5	1/20	1/80	1/5	1/20	1/80	1/5	1/20	1/80
Sérums négatifs	75	84	81	46	9	7	41	43	44
Sérums faiblement positifs.	25	40	92	9	42	5	30	2	10
Sérums fortement positifs.	7	13	42	14	28	23	17	19	15
Témoins virus.	90								

Tous les chiffres représentent le pourcentage de la mortalité.

festent une toxicité souvent assez forte lorsqu'ils sont placés au contact de cellules d'une espèce étrangère [15], il est bien probable qu'il s'agit ici d'une certaine toxicité du sérum humain pour la souris, car la mortalité des souris inoculées avec le sérum faiblement positif, dilué au 1/5 et au 1/20, est beaucoup plus grande que celle des souris inoculées avec le même sérum dilué au 1/80. De plus, il nous semble que le cerveau de souris, infecté avec le virus poliomyélitique, possède peut-être la propriété de neutraliser cette toxicité du sérum. En effet, les souris inoculées avec le mélange sérum positif dilué et virus Lansing

présentent une mortalité non spécifique beaucoup plus faible que les souris inoculées avec le sérum seul ou avec le mélange sérum et émulsion de cerveau normal.

B. RÉSULTATS DE LA NEUTRALISATION DU VIRUS LANSING PAR LES SÉRUMS DES HABITANTS DE SAINT-AUGUSTIN. — Les tests de neutralisation indiqués dans les figures 5, 6 et le tableau VI montrent

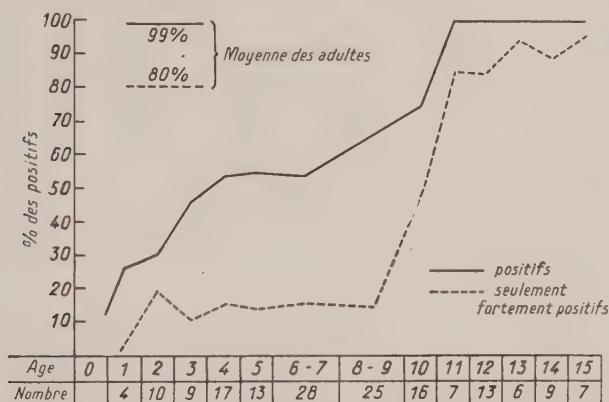


FIG. 5. — Neutralisation de la souche Lansing par les sérums de la population enfantine de Saint-Augustin. La courbe en traits pleins est celle de l'ensemble des sérums présentant des anticorps; la courbe en traits pointillés est celle des individus dont le sérum neutralise fortement la souche Lansing.

A titre de comparaison, les taux moyens des adultes sont indiqués à droite de la courbe.

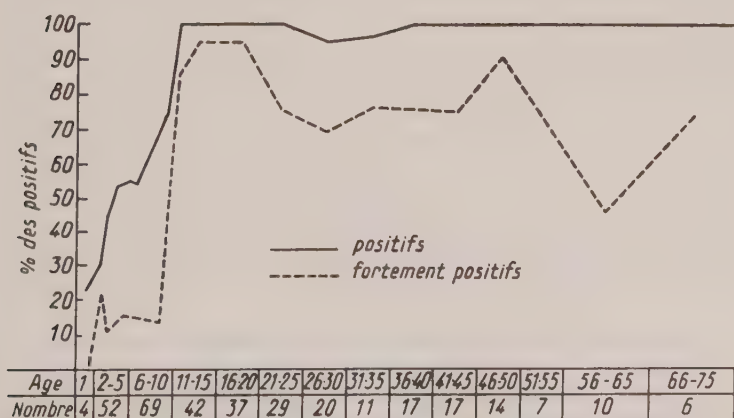


FIG. 6. — Courbe de neutralisation de la souche Lansing par les sérums de l'ensemble de la population de Saint-Augustin (enfants et adultes) classée par groupes d'âge. Trait plein : sérums positifs; trait interrompu, sérums fortement positifs.

TABLEAU VI. — Résultats.

AGE	NOMBRE			POURCENTAGE		
	0	+	++	0	+	++
1 à 5 ans	30	16	7	57	30	13
6 à 10 ans	25	28	16	36	41	23
11 à 15 ans		4	38		10	90
16 à 20 ans		2	35		5	95
21 à 25 ans		8	21		28	72
26 à 30 ans	1	6	13	5	30	65
31 à 35 ans	1	1	9	9	9	82
36 à 40 ans		3	14		18	82
41 à 45 ans		3	14		18	82
46 à 55 ans		2	19		5	95
56 à 75 ans		8	9		47	53

que les enfants de Saint-Augustin âgés de 1 et 2 ans possèdent très peu d'anticorps. Dans ce groupe nous avons trouvé 28 p. 100 de sérums positifs seulement. A l'âge de 4 ans, 50 p. 100 des enfants possèdent des anticorps anti-Lansing et, à partir de l'âge de 11 ans, tous les enfants de Saint-Augustin ont dans leur sang des anticorps antipoliomyélitiques à un taux assez élevé. Les résultats de l'expérience montrent que 99 p. 100 des adultes sont positifs dans cette épreuve. Parmi les habitants de Saint-Augustin, 2 sujets adultes seulement, âgés respectivement de 30 et 31 ans, n'ont pas présenté d'anticorps neutralisants dans leur sérum.

La majorité des jeunes enfants possèdent un titre d'anticorps assez bas. Chez les enfants âgés de 4 à 9 ans, nous avons constaté que 43 p. 100 étaient négatifs et que 42 p. 100 possédaient dans leur sérum une quantité assez faible d'anticorps neutralisants (leur sérum, dilué au 1/80, ne neutralisait plus la souche Lansing) et que 14 p. 100 seulement des enfants possédaient des anticorps à un titre supérieur à 1/80. Par contre, parmi les sérums provenant des habitants de Saint-Augustin âgés de 11 à 20 ans, nous n'avons trouvé aucun sérum négatif et 93 p. 100 des sujets de ce groupe possédaient des anticorps à un titre supérieur à 1/80.

AGE	POURCENTAGE des sérums négatifs	POURCENTAGE des sérums faiblement positifs	POURCENTAGE des sérums fortement positifs
4 à 9 ans	43	42	14
11 à 20 ans	0	7	93

D'après notre étude, il semble qu'à Saint-Augustin les garçons acquièrent des anticorps à un âge plus précoce que les filles. A l'âge de 3 ans, 50 p. 100 des garçons possèdent des anticorps anti-Lansing. Chez les filles, ce pourcentage n'est observé qu'à l'âge de 5 ans (fig. 7). Parmi les hommes et les femmes âgés de

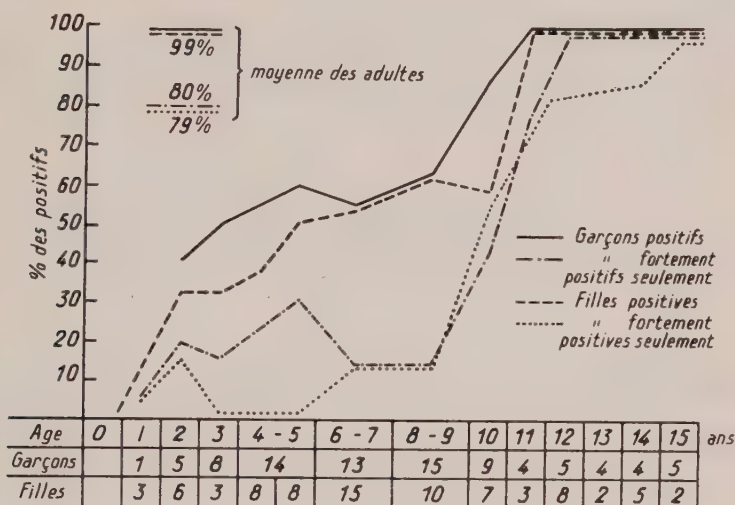


FIG. 7. — Courbes de neutralisation de la souche Lansing par la population enfantine de Saint-Augustin en fonction de l'âge et du sexe.

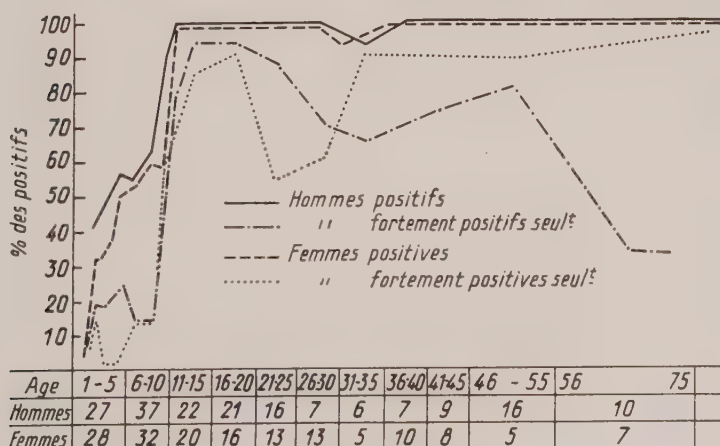


FIG. 8. — Courbes de neutralisation de la souche Lansing par l'ensemble de la population de Saint-Augustin en fonction de l'âge et du sexe.

11 à 20 ans, nous avons trouvé à peu près le même pourcentage de sérums fortement positifs. A l'âge de 21 ans, le nombre de femmes possédant des sérums fortement positifs diminue ; il atteint 56 p. 100 à l'âge de 21 à 25 ans, et à partir de 30 ans, il va en augmentant. Nous avons constaté que 90 p. 100 des femmes de Saint-Augustin âgées de plus de 33 ans possèdent des sérums fortement positifs.

Chez les hommes de cette localité, on observe le même phénomène : la chute des anticorps commence un peu plus tard que chez les femmes et l'augmentation des anticorps est très faible après 40 ans (fig. 8 et tableau VII).

TABLEAU VII. — Résultats.

AGE		NOMBRE			POURCENTAGE		
		0	+	++	0	+	++
1 à 5 ans.	H	12	7	6	48	28	24
	F	18	9	1	64	32	4
6 à 10 ans.	H	12	17	8	32	46	22
	F	13	11	8	41	34	25
11 à 15 ans.	H		1	21		5	95
	F		3	17		15	85
16 à 20 ans.	H		1	20		5	95
	F		1	15		6	94
21 à 25 ans.	H		2	14		13	87
	F		6	7		46	54
26 à 30 ans.	H		2	5		29	71
	F	1	4	8	8	31	61
31 à 35 ans.	H	1	1	4	17	17	66
	F			5			100
36 à 40 ans.	H		2	5		29	71
	F		1	9		10	90
41 à 45 ans.	H		2	7		22	77
	F		1	7		13	87
46 à 55 ans.	H		2	14		13	87
	F			5			100
56 à 75 ans.	H		7	3		70	30
	F		1	6		14	86

H, Hommes; F, Femmes; 0, pas d'anticorps; +, présence d'anticorps; ++, présence d'anticorps à un taux élevé.

**Pourcentage des individus présentant des anticorps
selon les groupes d'âge.**

	AGE								
	11 à 20 ans			21 à 23 ans			34 à 75 ans		
	0	+	++	0	+	++	0	+	++
Hommes	0	5	95	4	18	78	0	30	70
Femmes	0	11	89	4	37	59	0	10	90

Les chiffres représentent le pourcentage des individus de chaque groupe d'âge dont le sérum renferme des anticorps (+ ou ++) ou n'en renferme pas (0).

IV. DISCUSSION.

L'épidémie de poliomyélite de Saint-Augustin est une des rares épidémies qui ont eu lieu durant la saison la plus froide de l'année. A cet endroit, la température moyenne pendant le mois de janvier est de -20° C. Ce qui démontre une fois de plus que la paralysie infantile n'est pas une maladie strictement saisonnière, et qu'une épidémie peut apparaître aussi bien en hiver qu'en été.

Etant donné que Saint-Augustin est un village isolé, 7 personnes seulement l'ont visité entre le 23 décembre et le 21 janvier. Nous avons recherché le virus poliomyélique dans les selles de 5 des 7 personnes mentionnées ci-dessus (les 2 autres n'ayant pas été retrouvées). Nous n'avons pu isoler le virus dans aucun échantillon des selles de ces 5 personnes. Mais les résultats négatifs n'excluent pas la possibilité que le virus poliomyélique ait été apporté à Saint-Augustin par l'une de ces 7 personnes.

L'épidémie de Saint-Augustin doit être considérée comme une des plus graves parmi les épidémies de poliomyélite. On y a observé 13 cas paralytiques, 5 cas méningitiques graves et 15 cas méningitiques bénins, ce qui représente une morbidité de 8 p. 100 de la population totale. Même si l'on admet que, pour 1 cas paralytique, il y a au moins 50 cas non paralytiques (des auteurs américains admettent même jusqu'à 1 000 cas non paralytiques pour 1 cas paralytique [2]), toute la population a dû être infectée par le virus poliomyélique. L'épidémie de Saint-Augustin de 1950 diffère beaucoup de celle de la Baie d'Hudson de 1948-1949 [8, 9, 10]. Les Eskimo de tout âge du nord du Manitoba avaient contracté la poliomyélite et même avec prédominance chez les sujets plus âgés. A Saint-Augustin, tous les malades

sont des enfants de 2 à 14 ans, et seuls les enfants de 2 à 10 ans ont été frappés de paralysie dans une proportion de 11,4 p. 100 de tous les enfants de cet âge ; 23,1 p. 100 des enfants de Saint-Augustin âgés de 4 à 12 ans ont présenté les symptômes cliniques de l'attaque par le virus. Ce sont les enfants de 7 ans qui ont le plus souffert : 52 p. 100 des enfants de cet âge ont contracté la maladie et la moitié d'entre eux ont été paralysés. Sur 8 garçons de 7 ans, il y eut 5 paralysés et 1 présentant la forme méningée. C'est dire qu'à Saint-Augustin 75 p. 100 des garçons

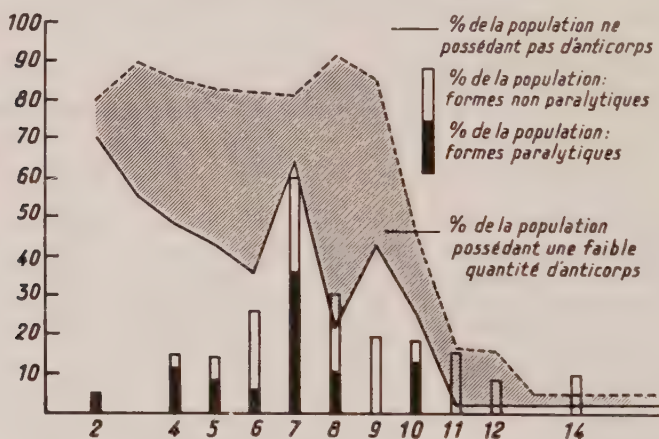


FIG. 9. — Comparaison de la répartition des cas de poliomyélite selon leurs formes cliniques avec la courbe de neutralisation des anticorps de la population enfantine. L'aire grisée indique le pourcentage de la population en fonction de l'âge, dont le sérum ne renferme qu'une faible quantité d'anticorps.

de 7 ans ont contracté la poliomyélite et que 62 p. 100 ont été paralysés.

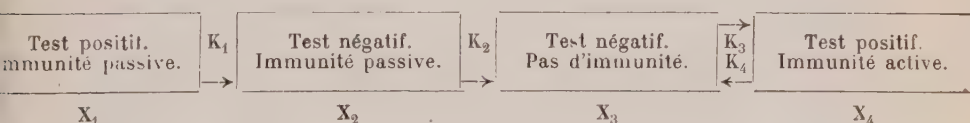
Nous voudrions expliquer ce fait en comparant la courbe de neutralisation avec l'incidence de la poliomyélite (fig. 9). Il ressort de cette comparaison qu'une faible partie des enfants seulement possèdent à la fois dans leur sang des anticorps neutralisant la souche Lansing et une résistance contre la poliomyélite ; la majorité ne possède pas d'anticorps anti-Lansing du tout, d'où la grande sensibilité de ces enfants (pourquoi surtout les garçons ?). A mesure qu'ils avancent en âge, le nombre des sujets possédant (ne serait-ce qu'une faible quantité) des anticorps, augmente et la fréquence de la poliomyélite diminue ; ainsi, à partir de 11 ans, presque tous les sujets possèdent dans leur sérum un taux d'anticorps assez élevé qui augmente vraisemblablement leur résistance contre la poliomyélite, et c'est la

raison pour laquelle on n'observe plus de cas paralytiques chez les enfants de plus de 10 ans. Le fait que les enfants de moins de 7 ans contractent moins souvent la poliomyélite, peut être expliqué par une résistance naturelle, et plus grande chez les plus jeunes enfants. Le même phénomène a été observé pendant l'épidémie de la Baie d'Hudson [8], où la poliomyélite a sévi parmi une population qui n'a présenté aucune résistance naturelle ni acquise. La poliomyélite paralytique n'y a frappé que 4 p. 100 des enfants de 0 à 4 ans, 23 p. 100 des enfants de 5 à 9 ans et 42 p. 100 des sujets de 15 à 19 ans.

Sabin [16] a de même démontré expérimentalement que les souriceaux nouveau-nés possèdent une résistance relative au virus poliomyélitique.

Le test de neutralisation de la souche Lansing montre que presque toute la population âgée de 11 ans et plus possède des anticorps antipoliomyélitiques, à l'exception de deux sujets qui, probablement, sont incapables de produire des anticorps anti-Lansing.

Nous avons essayé d'appliquer la formule de Turner [2] sur le comportement de l'immunité à la population de Saint-Augustin. La formule générale, traduisant chronologiquement l'évolution de l'immunité antipoliomyélitique, est la suivante :



Dans cette formule, les constantes K_1 et K_4 représentent les proportions selon lesquelles, dans une population donnée, les sujets immuns perdent leur immunité passive ou active. K_2 représente la proportion selon laquelle les anticorps maternels qui ne sont plus décelables tombent à un taux insuffisant pour protéger l'individu contre la maladie. K_1 , K_2 et K_4 sont presque constants dans les diverses localités, car ils représentent un processus physiologique. K_3 représente la proportion selon laquelle une population donnée acquiert l'immunité active. Ainsi, K_3 dépend de l'exposition de la population au virus poliomyélitique, ou bien de la quantité du virus dans une localité donnée. K_3 varie d'une localité à l'autre et d'une époque à une autre dans une même localité.

Les chiffres proposés par Turner pour les trois constantes sont : K_1 , 2,1 ; K_2 , 1 ; K_3 , 0,0215. En étudiant les courbes de neutralisation, Turner a établi le K_3 pour Baltimore comme étant égal à 0,1935.

Mais la courbe de distribution par âge des sujets possédant des anticorps, que nous avons tracée pour la population de Saint-Augustin, n'est comparable à aucune des courbes théoriques proposées par Turner. En prenant les constantes de Turner, nous avons trouvé qu'à Saint-Augustin, chez les enfants jusqu'à l'âge de 5 ans, K_3 est égal à 0,29 ; entre 6 et 9 ans, il est égal à 0,13 ; à partir de 10 ans, K_3 est égal à 1,41 et, à partir de 20 ans, K_3 devient même plus petit que K_4 , car à cet âge le taux d'immunité diminue [ou le taux des anticorps tombe] (fig. 10).

Les résultats du test de neutralisation que nous avons obtenus

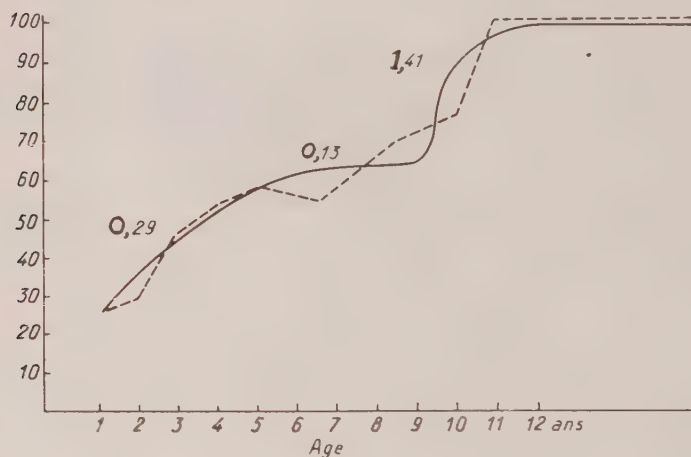


FIG. 10. — Proportion, en fonction de l'âge, des enfants de Saint-Augustin qui développent une immunité active contre la poliomyélite. Les chiffres indiquent la valeur des coefficients K_3 de Turner suivant les différentes phases de la courbe.

sont comparables à ceux de Paul et Riordan [7]. 15 p. 100 seulement des enfants de Saint-Augustin âgés de 0 à 9 ans possèdent des sérums fortement positifs, tandis qu'à partir de 10 et 11 ans, tous les sujets possèdent non seulement des anticorps neutralisants dans leur sang, mais présentent en outre une certaine résistance au virus poliomyélique. La même apparition brusque des anticorps est observée chez les Eskimo de l'Alaska [7]. Il est bien possible que la population de Saint-Augustin ait été atteinte par une épidémie de poliomyélite il y a au moins onze ans, mais il est bien probable, en ce cas, qu'à ce moment-là il n'y a eu que très peu, ou même pas du tout, de cas paralytiques. Ce fait pourrait expliquer la grande résistance et la présence des anti-

corps à un titre assez élevé chez les habitants de Saint-Augustin âgés de plus de 11 ans.

Nous ne croyons pas qu'au moment du prélèvement de nos échantillons, l'épidémie de janvier eût déjà grandement influencé le taux des anticorps dans la population de Saint-Augustin, car tous les prélèvements de sang ont été faits un mois après l'apparition du premier cas de poliomyélite et quatorze jours seulement après que le premier cas eût présenté des paralysies. Steigman et Sabin [47] ont bien montré que les anticorps neutralisants homologues apparaissent en même temps que les paralysies, et que les anticorps neutralisant la souche Lansing, quand elle n'est pas la cause de la maladie, apparaissent trois mois seulement après l'apparition des paralysies. D'autre part, les souches de poliomyélite que nous avons isolées pendant cette épidémie ne semblent pas être pathogènes pour les rongeurs. Cependant, la différenciation des sérums faiblement positifs de ceux fortement positifs par groupes d'âge nous ayant permis de construire les courbes des figures 5 et 9, il en ressort que bon nombre d'enfants entre 2 et 9 ans possèdent déjà des anticorps neutralisant la souche Lansing, mais à un taux très bas ; ils ont pu acquérir ces anticorps au cours de l'épidémie qui régnait alors à Saint-Augustin.

La diminution des anticorps neutralisants chez les habitants de Saint-Augustin âgés de plus de 20 à 25 ans est probablement due au mode de vie et aux coutumes du pays. C'est vers cet âge-là que les hommes vont à la pêche ou à la chasse et qu'ils restent au moins sept mois par an hors de leurs foyers. Il ne faut pas oublier non plus, surtout chez les femmes, le rôle que jouent les glandes endocrines dans l'apparition des anticorps. Jungeblut et Engle [48] ont observé deux femmes chez qui le taux d'anticorps variait avec le cycle des menstruations. En outre, les jeunes adultes ont une hygiène personnelle beaucoup plus soignée que les enfants ; ce qui peut réduire les possibilités de contamination par le virus. Vers l'âge de 30 ans les jeunes gens se marient et les femmes restent en contact intime avec les enfants, ce qui accroît pour celles-ci les possibilités de rencontrer le virus et de voir les anticorps augmenter dans le sérum. C'est probablement là la raison pour laquelle 90 p. 100 des femmes de Saint-Augustin, âgées de 30 ans et plus, possèdent des anticorps neutralisant la souche Lansing à un taux assez élevé. Enfin, les conditions générales de vie dans le grand Nord, l'hiver long et froid, les maisons surpeuplées et les habitudes assez primitives facilitent l'extension du virus poliomyélique pendant les épidémies.

CONCLUSIONS.

1° Une épidémie de poliomyélite dans un village isolé dans le nord-est du Canada est apparue en 1950 pendant la saison la plus froide.

2° Pendant cette épidémie, on a observé des paralysies chez 4,4 p. 100 de la population. Les formes méningées et les formes abortives ont été fréquentes.

3° Seuls les enfants entre 2 et 14 ans furent atteints pendant l'épidémie.

4° Il existe une relation inverse entre l'incidence de la poliomyélite et le taux des anticorps neutralisant la souche Lansing dans les divers groupes d'âge.

5° L'épreuve de neutralisation de la souche Lansing a montré que 25 p. 100 des enfants de 1 an possèdent le principe neutralisant dans leur sang et que 50 p. 100 des enfants de 4 ans et 100 p. 100 des enfants de 11 ans et plus sont positifs à cette épreuve.

6° Grâce à la différenciation des sérums faiblement positifs et des sérums fortement positifs, nous avons pu constater que le taux d'immunité baisse à partir de 20 à 25 ans.

7° 90 p. 100 des femmes âgées de 33 ans et plus possèdent des anticorps neutralisants à un taux élevé, tandis que 70 p. 100 seulement des hommes du même âge possèdent des sérums fortement positifs.

Nous exprimons notre reconnaissance au Dr A. R. Foley, épidémiologiste à la province de Québec, aux Drs Hodd et Claire Neville-Smith pour leur aide et les renseignements épidémiologiques qu'ils nous ont fournis, aux Drs Bernard Laramée et Paul Brunelle qui ont accepté d'aller à Saint-Augustin ; au Corps d'Aviation Royale Canadienne qui a mis à la disposition de l'Institut de Microbiologie les avions nécessaires ; à toute la population de Saint-Augustin, P. Q., et en particulier à M^{lle} Sarah Van Buskirk, à M^{me} Bernard Church, au R. P. Loiselle, O. M. I., et au R. P. Hachez, O. M. I., pour leur collaboration dans le prélèvement des échantillons.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] T. B. TURNER, A. E. YOUNG et E. S. MAXWELL. *Am. J. Hyg.*, 1945, **42**, 119.
- [2] T. B. TURNER, D. H. HOLLANDER, S. BUCKLEY, U. P. KORRO et C. P. WINDSOR. *Am. J. Hyg.*, 1950, **52**, 323.
- [3] G. C. BROWN et T. FRANCIS. *J. Immunol.*, 1947, **57**, 1.
- [4] A. B. SABIN. *Papers and Discussions presented at the First Inter-*

national Poliomyelitis Conference. J. B. Lippincott C^o, édit., 1948, p. 24.

- [5] W. McD. HAMMON, G. E. SATHER et N. HOLLINGER. *Am. J. publ. Health.*, 1950, **40**, 293.
- [6] J. H. GEAR. *Proceed. 4th international Congr. trop. Med. a. Malaria*, Washington D. C. Gov^t. Printing Office, 1948, **1**, 555.
- [7] J. R. PAUL et J. R. RIORDAN. *Am. J. Hyg.*, 1950, **52**, 202.
- [8] J. D. ADAMSON, J. P. MOODY, A. F. W. PEART, R. A. SMILLIE et J. C. WILT. *Canad. med. Assoc. J.*, 1949, **61**, 339.
- [9] A. F. W. PEART. *Canad. J. publ. Health*, 1949, **40**, 405.
- [10] A. J. RHODES, E. M. CLARK, A. GOODFELLOW et W. L. DONOHUE. *Canad. J. publ. Health.*, 1949, **40**, 418.
- [11] P. LÉPINE. *C. R. Soc. Biol.*, 1939, **81**, 573.
- [12] L. J. REED et H. MUENCH. *Am. J. Hyg.*, 1938, **27**, 493.
- [13] W. McD. HAMMON. *Encephalitis*, p. 206. In *Diagnostic procedures for virus and rickettsial diseases*. *Am. publ. Health. Ass.* 1948.
- [14] L. E. YOUNG et M. MERRELL. *Am. J. Hyg.*, 1943, **37**, 80.
- [15] A. DELAUNAY, R. ROBINEAUX et M^{lle} J. LEBRUN. *Rev. Immunol.*, 1950, **14**, 262.
- [16] A. B. SABIN. *Proceed. Soc. exp. Biol. a. Med.*, 1950, **73**, 294.
- [17] A. J. STEIGMAN et A. B. SABIN. *J. exp. Med.*, 1949, **90**, 349.
- [18] C. W. JUNGBLUT et E. T. ENGLE. *J. Immunol.*, 1933, **24**, 267.

L'HÉMOGLOBINURIE DE LA BABESIOSE DES SOURIS

par J. RODHAIN et Ch. DEMUYLDER.

(Institut de Médecine Tropicale, Anvers).

Dans une note antérieure [4] l'un de nous a signalé qu'au cours de l'infection que détermine chez la souris blanche *Babesia rodhaini*, un syndrome hémoglobinurique pouvait apparaître chez un certain nombre d'animaux.

Dans la présente note, nous relatons la suite des expériences que nous avons instituées en vue surtout de pouvoir étudier les lésions rénales des animaux souffrant d'hémoglobinurie.

I. FREQUENCE ET DÉCOURS DE L'HÉMOGLOBINURIE DE LA BABESIOSE DE LA SOURIS. — Depuis le 27 décembre 1949, date à partir de laquelle la souche parasitaire a été entretenue dans le laboratoire de l'un de nous, et jusqu'au 29 mars de cette année, 368 souris ont été inoculées.

Sur l'ensemble de ce total, 91 souris ont présenté des urines rouges avec présence de cylindres, 8 autres des urines verdâtres avec cylindres.

Ne tenant compte que du premier groupe d'animaux, le syndrome hémoglobinurique a atteint 72,8 p. 100 des souris atteintes de babesiose.

Des 91 souris montrant de l'hémoglobinurie, 40 ont succombé au cours même de leur atteinte ; 28 ont survécu un temps plus ou moins long après l'accès ; 15 ont été tuées au cours de celui-ci pour des raisons diverses. Toutes les souris ont été infectées par *B. rodhaini* par le moyen de sang très riche en *Babesia*. Afin d'obtenir des infections intenses, nous nous sommes servis le plus souvent de souris de moins de 20 g.

Chez tous les animaux atteints d'hémoglobinurie, l'infection s'accompagne d'un état fébrile, atteignant plus de la moitié des globules rouges. Le max. de l'hémoglobine sanguine est à ce moment de 25 p. 100, parfois quelquefois à 30 p. 100. Il n'y a cependant pas de corrélation absolue entre le nombre de parasites et l'intensité de l'hémoglobinurie : certaines souris, avec un parasitémie intense, succombent sans présenter de l'hémoglobinurie dans les urines.

La durée même de l'accès hémoglobinurique est courte et n'excède jamais trois jours. Les animaux meurent le plus souvent vers la fin du deuxième jour de l'accès. Chez ceux qui guérissent, la couleur rouge des urines fait habituellement place à une coloration verdâtre.

Nous reproduisons ci-dessous le protocole d'une souris qui a survécu à un accès hémoglobinurique ayant duré quarante-huit heures.

Souris 104. — Inoculée dans le péritoine de IV gouttes de sang pris à la queue de la souris 102, le 8 juin 1950.

Le 12 : Le sang est parasité, montrant déjà assez bien de *Babesia*, 1 ou 2 par champ microscopique (+).

Le 13 : Les parasites ont augmenté (+±).

Le 15 : Ils sont très nombreux (++++) et les urines sont colorées avec présence de cylindres.

Le 16 : Légère diminution du nombre de parasites (+++±). Les urines restent rouge sombre, presque noires. Il y a des cylindres granuleux et épithéliaux et un précipité granuleux abondant de phosphate de Na et de potasse. L'hémoglobine du sang au Takuiet est à 35 p. 100.

Le 17 : L'urine a pris une coloration verdâtre. Dans le sang les *Babesia* ont diminué notablement tout en étant encore nombreux. (+++). Il y a de la polynucléose neutrophile.

Le 19 : Les parasites sont encore nombreux dans le sang. Les hématies métachromatiques ont augmenté en nombre. Il y a quelques normoblastes.

A partir du 20, les *Babesia* diminuent fortement en nombre. Ils restent pourtant encore assez nombreux jusqu'au 24 : puis il se produit une chute brusque et les 28 et 30 ils sont devenus extrêmement rares. Ils disparaissent alors momentanément pour réapparaître en petit nombre le 29 juillet.

L'animal survit et est supprimé en bon état le 13 septembre 1950.

L'accès hémoglobinurique a duré quarante-huit heures : chez la souris 330 il céda après vingt-quatre heures.

Souris 330. — Inoculée le 6 février 1951. Le 10 le sang montre de très rares parasites (±) : ils augmentent progressivement et sont nombreux, puis très nombreux le 14 et le 15. Le 16 les urines sont colorées en rouge avec des cylindres très peu nombreux. Le 17 les urines sont verdâtres avec d'assez nombreux cylindres : les parasites restent nombreux dans le sang.

Le 19 les urines sont encore légèrement verdâtres : les cylindres sont devenus rares. Dans le sang, les *Babesia* sont fortement réduits en nombre. Le 21 ils sont devenus rares et l'animal guérit.

Nous avons dit plus haut que toutes les souris présentant de l'hémoglobinurie étaient atteintes d'un parasitisme sanguin intense. Indistinctement aussi les urines de ces animaux montrent des cylindres en nombre variable d'ailleurs. Ils sont généra-

lement courts, la plupart épithéliaux, quelques-uns granuleux. Il y a quelques cellules libres de l'épithélium rénal, très exceptionnellement quelques très rares érythrocytes. L'examen au spectroscope dénote la présence d'oxyhémoglobine.

Ces urines sont albumineuses ; 4 dosages que nous avons pu effectuer ont donné comme maximum 14 g et comme minimum 4 g par litre.

Lorsque les souris survivent à l'hémoglobinurie et que le nombre de *Babesia* diminue, apparaît une leucocytose sanguine où les polynucléaires prédominent ; en même temps survient une augmentation considérable des réticulocytes.

Rappelons que ceux-ci sont rarement parasités par les *Babesia*.

A l'autopsie des animaux qui ont succombé au cours de l'accès hémoglobinurique, ou le lendemain de la cessation de ce dernier, la vessie est le plus souvent vide. Les reins sont gros, de couleur variable, quelquefois congestionnés, mais le plus souvent pâles ou brunâtres.

II. LÉSIONS RÉNALES. — Pour l'étude des lésions rénales, nous avons disposé du matériel de 9 souris. Les reins ont été prélevés chez 4 animaux immédiatement après la mort, et chez les 5 autres à l'autopsie de souris tuées au cours de l'accès. Les organes ont été fixés au Bouin-Hollande et les coupes colorées à l'hématoxyline-éosine ou au trichrome Masson.

L'étude histologique qu'en a faite l'un de nous a abouti aux constatations suivantes :

Le phénomène essentiel est la lyse des globules rouges et le passage des produits de décomposition dans l'appareil excréteur urinaire.

Dans les coupes colorées au trichrome Masson, on voit dans les gros vaisseaux du hile rénal, à côté d'érythrocytes normaux, d'autres globules dont le diamètre est plus grand et dont le pigment semble condensé en petites granulations ; ces granulations deviennent de plus en plus nettes et distinctes dans certaines hématies tout à fait hydropiques. Le fait de trouver des granulations libres dans le plasma permet de supposer que les hématies finissent par éclater et libérer leur contenu qu'on retrouve alors dans les fentes lymphatiques et jusqu'aux bases des cellules tubulaires.

Dans les cellules des tubes contournés de premier ordre, on peut voir divers aspects, tous caractérisés par la présence de granulations rouges semblables à celles qu'on observe dans les vaisseaux. Parfois les granulations sont accumulées aux bases des cellules entre les limites périphériques des tubes et les noyaux. Parfois elles sont juxta-nucléaires, parfois elles siègent dans les zones apicales sous les bordures en brosse. On en

retrouve enfin dans les magmas bleuâtres (cylindres) qui occupent les lumières tubulaires. Les cellules chargées de granulations montrent de la tuméfaction trouble avec pycnose apparente des noyaux dans un certain nombre d'entre elles.

A côté des granulations rouges, on peut en distinguer qui sont colorées en bleu pâle, quelquefois à peine distinctes. On les retrouve aussi dans la lumière tubulaire. Les microphotos de la planche I reproduisent un aspect caractéristique de ces cellules chargées de granulations rouges.

Les glomérules ne semblent pas spécialement modifiés et ne paraissent pas être le siège d'un processus pathologique quelconque ; on y retrouve parfois de fines granulations rougeâtres.

En résumé, les lésions de loin les plus importantes sont celles des tubes contournés de premier ordre, et les altérations qu'on peut observer ailleurs sont discrètes.

L'examen des préparations ne permet pas de relever une modification de l'appareil juxta-glomérulaire, pas plus qu'une diversion médullaire du sang destiné au cortex.

Les déchets globulaires dont l'hémoglobine passant par les glomérules sont-ils partiellement fixés, puis excrétés par les cellules tubulaires (athrocytose), ou traversent-ils sans fixation proprement dite les cellules épithéliales du tube contourné de premier ordre de leur base vers leur apex ?

Il est difficile, dans le cas de la babesiose de la souris, de départager les deux hypothèses.

DISCUSSION.

Fred Marschall, dans une étude très étendue des lésions rénales qui surviennent chez les rats splénectomisés atteints d'hémoglobinurie au cours de la bartonellose, fait observer que s'il a paru de nombreux travaux sur les piroplasmoses animales, très peu en réalité ont porté sur l'examen approfondi de l'anatomie pathologique des reins [2].

Par contre, les lésions rénales de l'hémoglobinurie malarienne de l'homme ont été bien étudiées, de même aussi celles de l'hémoglobinurie des *Macacus rhesus* expérimentalement infectés de *Plasmodium knowlesi*. Il faut dire cependant que J. O. Baratt, Wakelin et Warrington York ont, dès 1909, porté leur attention sur l'hémoglobinurie des chiens atteints de *Piroplasma canis* [3].

C'est dans leur étude et celle de Fred Marschall précitée que l'on trouve les meilleurs points de comparaison pour les lésions rénales observées dans les hémoglobinuries d'origine parasitaire.

Dans ces hémoglobinuries, les lésions rénales sont, d'une manière générale, dégénératives et non inflammatoires et limitées en ordre principal aux tubes contournés de premier ordre. Ils

varient en intensité et s'étendent quelquefois aux cellules des tubes contournés de deuxième ordre [4, 5].

Les glomérules ne présentent pas de lésions appréciables ; le tissu interstitiel ne montre rien de spécial et les vaisseaux sont normaux.

La plupart des auteurs admettent que la lyse des globules rouges se fait en dehors des reins. Il y a hémoglobinémie avant hémoglobinurie, les reins excréant simplement l'hémoglobine. L'image histologique des reins chez les souris atteintes de babesiose indique que c'est aussi le cas. Chez les animaux hémoglobinuriques, très anémiés, la masse sanguine elle-même est réduite, et les quantités de sang que l'on peut prélever ne suffisent pas pour un dosage de l'hémoglobine.

Le fait que chez les animaux morts soit au cours de l'accès hémoglobinurique, soit immédiatement après l'ictère, ou bien manque ou n'est que très faiblement et exceptionnellement indiqué, ne prouve pas qu'il n'existe pas d'hémoglobinémie. Que la lyse des érythrocytes se poursuive dans les gros vaisseaux du hile n'a d'ailleurs rien d'étonnant.

L'image des cellules des tubes contournés chargés de grains rouges de diverses dimensions correspond exactement à celle que reproduit la figure 3 de l'étude de Marschall précitée et qui concerne les reins de rats splénectomisés atteints d'hémoglobinurie à la suite de bartonellose.

Ainsi donc, les altérations histologiques que nous trouvons dans les reins des souris hémoglobinuriques sont encore dégénératives, sécrétoires, et non inflammatoires. Elles correspondent dans leur essence à ce qui se rencontre dans les hémoglobinuries d'origine paludéenne chez l'homme et le singe, et celles provoquées par les piroplasmoses chez le chien et les bovidés.

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS.

Au cours de la babesiose aiguë de la souris jeune, une hémoglobinurie de courte durée peut apparaître chez plus de 70 p. 100 des animaux.

La mortalité des souris hémoglobinuriques est au minimum de 44 p. 100.

Cette hémoglobinurie s'accompagne de présence de cylindres épithéliaux et granuleux dans les urines et d'un taux élevé d'albuminurie.

Les lésions histologiques des reins sont localisées dans les tubes contournés de premier ordre et du type dégénératif.

L'hémolyse se continue dans les reins mêmes sans pourtant qu'il puisse être exclu qu'il existe de l'hémoglobinémie avant l'hémoglobinurie.

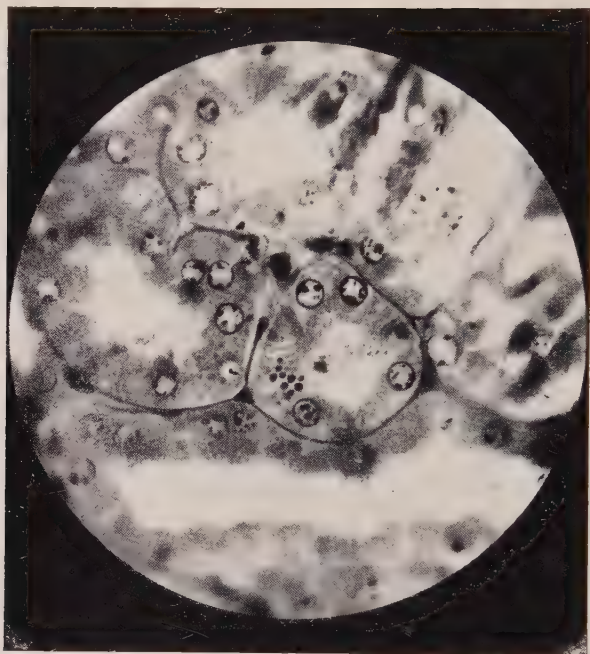


FIG. 1.

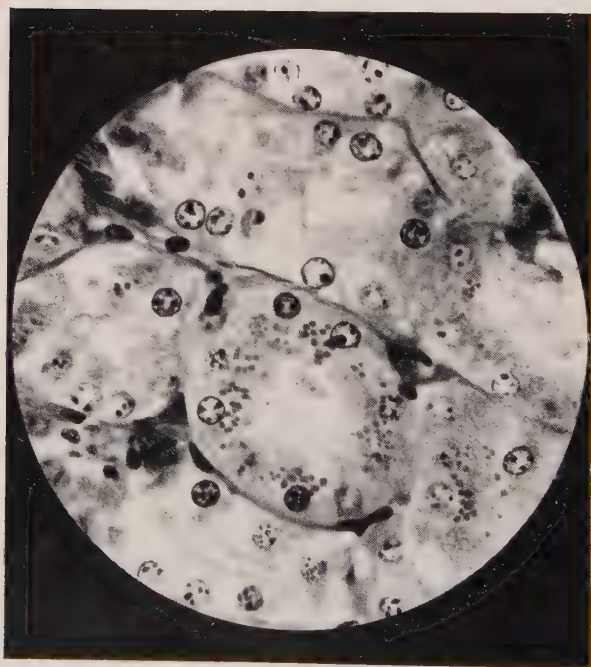


FIG. 2.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] J. RODHAIN. *Ces Annales*, 1950, **79**, 777.
- [2] FRED MARSCHALL. *Arch. Schiffs. Trop. Hyg.*, 1936, **40**, 151.
- [3] J. O. BARATT et W. YORK. *Ann. Trop. Med. a. Parasitology*, 1909, **3**, 1.
- [4] BRIAN MAEGRAITH. *Pathological Processes in Malaria and Blackwater Fever*, 1947.
- [5] FAIRLEY et BROMFIELD. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. a. Hyg.*, 1934, **28**, 141-307.

EXPLICATION DE LA PLANCHE

Reins de souris hémoglobinurique. Fixation Bouin-Hollande.
Coloration trichrome Masson.

FIG. 1. — Tube contourné montrant une cellule épithéliale chargée de granulations dont dix apparentes relativement grosses.

FIG 2. — Tube contourné avec cellules chargées de nombreuses granulations.

**RECHERCHES SUR LES FACTEURS
QUI CONDITIONNENT L'APPARTENANCE
DES BACILLES PARATYPHIQUES B
AUX DIFFÉRENTS TYPES BACTÉRIOPHAGIQUES
DE FELIX ET CALLOW**

**III. — NOUVELLES ÉTUDES SUR LES TRANSFORMATIONS DE TYPES
PAR L'ACTION DES BACTÉRIOPHAGES
EXTRAITS DES BACILLES LYSOGÈNES**

par PIERRE NICOLLE et YVES HAMON (*).

(*Institut Pasteur. Service du Bactériophage.*)

Nos recherches précédentes [1] nous ont conduits à admettre que chacun des 10 types de *Salmonella paratyphi* B individualisés par la lysotypie (1), selon la méthode de Felix et Callow, se présente sous un état constant de lysogénéité (2). L'état de lysogénéité, disions-nous, est défini par la présence ou l'absence du pouvoir lysogène, par le nombre et la qualité des phages élaborés.

La plupart des types s'étaient montrés lysogènes. Il y avait des types lysogènes à un phage : 2, 3 *a* [moins 3 *b*] (3), 3 *a* 1 (4) [groupe

(*) *Société Française de Microbiologie*, séance du 5 juillet 1951

(1) La lysotypie est l'opération qui permet de diviser une espèce bactérienne en un certain nombre de types en se basant sur les sensibilités très diverses des cultures de cette espèce à des bactériophages convenablement choisis. La lysotypie de *S. paratyphi* B se fait au moyen de phages spécifiques des B. paratyphiques B possédant l'antigène B Vi (Felix et Callow, 1951). Ce sont les phages B Vi [3].

(2) Rappelons que la lysogénéité est la propriété, effective ou potentielle, pour une culture bactérienne, d'émettre spontanément du bactériophage dans le milieu.

(3) Désignation provisoire d'un type non officiel caractérisé par les réactions du type 3 *a* (lyse confluyente avec les phages B Vi 3 *a*, 3 *a* 1, 3 *b*, Beccles, Taunton, B. A. O. R., Dundee), mais sans la réaction au phage 3 *b*.

(4) L'expérience de transformation des types nous a conduits, depuis lors, à admettre l'existence d'un deuxième phage demi-déterminant chez le type 3 *a* 1. Donc, les souches du groupe 3 *a* 1 (B 1305) élaboreraient deux phages et celles du groupe 3 *a* 1 (B 624) en élaboreraient trois (2 demi-déterminants + 1 phage indifférent). Le deuxième phage demi-déterminant n'a pu encore être isolé.

B-1305]. Il y avait des types lysogènes à deux phages : 3 a 1 (groupe B.624), Taunton, Dundee et certaines souches du groupe Z. Pour un type donné, le phage ou les phages sont identiques ou très voisins d'une souche à l'autre.

Enfin, nous n'avions pas réussi à extraire de phages des types 1, 3 a et 3 b.

La lysogénéité s'accompagnant, dans les conditions habituelles, de la résistance des bacilles aux phages élaborés, nous nous étions demandé si la diversité des états lysogènes ne serait pas la cause des différences observées dans la sensibilité des types de *S. paratyphi* B aux phages de la lysotypie (5), différences sur lesquelles est basée précisément la division de l'espèce paratyphique B en types. Autrement dit, nous pensions qu'il existait un lien entre l'appartenance d'une souche de bacille paratyphique B à l'un des types lysogènes et le nombre et la qualité des phages présents chez cette souche.

A l'appui de cette conception, nous avons montré [2] qu'en contaminant avec les phages extraits des types lysogènes les 3 types provisoirement admis comme dépourvus de lysogénéité, on pouvait observer des transformations de types. Mais, chose curieuse, chaque type lysogène ne pouvait être obtenu qu'à partir de l'un des 3 types admis comme non lysogènes, à l'exclusion des 2 autres : ainsi, le type 2 n'a pu être préparé artificiellement qu'à partir du type 1 ; les types 3 a 1 et 3 a (moins 3 b), à partir du type 3 a ; enfin, les types B. A. O. R., Beccles, Taunton et Dundee, à partir du type 3 b. Chacun des 3 types de base pouvait donc être considéré comme le chef de file d'une famille de types lysogènes.

Ces transformations artificielles de types autorisent-elles à admettre une filiation du même ordre entre les types naturels ? Nous ne sommes pas actuellement en mesure de répondre à cette question.

Peu de temps après la remise de nos deux mémoires, le Dr Felix nous a très aimablement communiqué les résultats qu'il avait obtenus, en collaboration avec miss Callow, sur la lysogénéité des différents types de *S. paratyphi* B [3] : pour ces auteurs, les types 1, 3 a et 3 b sont aussi lysogènes : leurs phages sont seulement plus difficiles à extraire que ceux des autres types.

Nos recherches récentes confirment entièrement ces faits. Nous pouvons, de plus, y ajouter les précisions complémentaires suivantes :

Lysogénéité du type 1. — Scholtens [4] avait isolé des cultures de ce type, un phage, en utilisant comme bactérie détectrice la

(5) Les phages employés pour la lysotypie sont désignés dans ce travail, comme le font Felix et Callow, sous le nom de phages B Vi.

souche *S. dublin* n° 65. Pour cet auteur, le type 1 était donc lysogène, mais son pouvoir lytique se manifestait seulement en dehors de l'espèce *S. paratyphi* B. Nous avons confirmé ces faits [4]. Felix et Calow [3] ont extrait de cultures du type 1 un phage actif sur certaines souches du type B. A. O. R.

De notre côté, nous avons trouvé une souche de *S. paratyphi* B type 1 [n° 44231] (6) qui, d'une part, est sensible au phage contenu dans les filtrats des autres cultures du type 1, ainsi qu'au même phage régénéré sur *S. dublin* n° 65, et d'autre part, jusqu'à présent, n'a montré aucun pouvoir lytique vis-à-vis d'autres souches de bacille paratyphique B. Or, cette souche fait fermenter le *d*-tartrate. On sait que la majorité des bacilles de *S. paratyphi* B n'attaque pas le *d*-tartrate. Pour certains auteurs, le pouvoir fermentaire sur ce sel se rencontrerait plus fréquemment chez les bacilles paratyphiques B (groupe B₂) isolés des malades ayant présenté le syndrome d'intoxication gastro-intestinale [6, 7, 8]. La sensibilité de la souche 44231 aux phages élaborés par les autres cultures du même type et sa non-lysogénéité, jusqu'ici provisoirement admise, sont-elles liées au pouvoir d'attaquer le tartrate ? Il ne sera pas facile de répondre à cette question parce que, comme on le sait, les cultures tartrate-positives de *S. paratyphi* B sont peu fréquentes. Le type 1 étant lui-même assez rare en France (1 p. 100 des foyers), il doit être exceptionnel de rencontrer des souches possédant à la fois ces deux caractères.

Ainsi, les cultures du type 1 présentent, dans leur état lysogène, une hétérogénéité nette. D'une part, la presque totalité des cultures possèdent un phage dont l'activité se manifeste en dehors de l'espèce sur *S. dublin* n° 65, et dans l'espèce sur une souche du même type, caractérisée par son pouvoir fermentaire sur le *d*-tartrate.

D'autre part, une souche, jusqu'à présent unique, qui est précisément cette souche *d*-tartrate positive, ne libère pas de phage actif sur *S. dublin* n° 65. Il est probable que la sensibilité de cette souche au phage des autres souches du même type est en relation avec son inaptitude à élaborer ce phage.

Cette hétérogénéité dans le type 1 offre sans doute le moyen de diviser les cultures de ce type en deux sous-types d'après leur résistance ou leur sensibilité au phage extrait du groupe lysogène. L'intérêt d'une telle subdivision dépendra entièrement des faits épidémiologiques.

Lysogénéité du type 3 a. — Scholtens admet que la souche standard B 365 du type 3 a est lysogène. Son phage serait le même que celui de la souche standard B 1305 du type 3 a 1. Il

(6) Cette culture nous a été envoyée par le Dr BUTTIAUX, de l'Institut Pasteur de Lille, auquel nous adressons nos vifs remerciements.

considère l'autre souche standard B 62 du type 3 *a* comme non lysogène. Nos expériences antérieures [4] nous avaient conduits à considérer le type 3 *a* comme non lysogène. Felix et Callow [3] ont trouvé que les filtrats des souches 3 *a* étaient doués d'une action lytique faible sur les types 3 *a* 1 et Taunton.

En reprenant nos essais avec des techniques améliorées, nous avons vu que la souche standard B 62 du type 3 *a* possède effectivement 1 phage qu'on ne peut pas mettre en évidence dans les filtrats. Pour l'extraire, il faut pratiquer la culture mixte du type 3 *a* avec la souche tartrate-positive du type 1. Le filtrat de cette culture mixte contient alors un phage actif sur les souches (tartrate + et tartrate —) du type 1, sur la souche standard du type 2, sur une souche « rough » du type Beccles et enfin sur *S. dublin* n° 65.

Ce phage, mis en contact avec une culture du type 1 (tartrate + ou tartrate —) ne provoque pas la formation du type 3 *a*, comme on serait en droit de l'attendre, d'après nos expériences de transformation artificielle de types. Le phage extrait du type 3 *a*, dans les conditions rapportées plus haut, n'est donc pas « déterminant » (7) de ce type. Mais il n'est pas non plus tout à fait indifférent. Il « éteint » la sensibilité initiale du type 1 au phage B Vi Beccles et quelquefois au phage B Vi Taunton ; ce qui est assez paradoxal, puisque le type 3 *a* duquel le phage en question a été extrait est sensible à ces phages. Nous poursuivons l'étude de ce phage.

En résumé, le type 3 *a* est lysogène. Les filtrats des cultures de ce type ne contiennent pas de phage. Mais on peut en obtenir un par culture mixte d'une souche 3 *a* avec une souche du type 1 *d*-tartrate +. Le phage ainsi extrait est actif sur le type 1 et quelques autres types. Il n'est pas déterminant pour le type 3 *a*, c'est-à-dire qu'en contaminant une culture du type 1 avec ce phage, on n'obtient pas le type 3 *a*.

(7) Nous avons appelé « phages déterminants » les phages de lysogénéité qui, par contamination expérimentale, transforment l'un des types de base (1, 3 *a*, 3 *b*) en un type artificiel analogue au type naturel duquel ils ont été extraits. Exemple : le phage extrait du type Beccles transforme le type de base 3 *b* en type Beccles par « extinction » de la sensibilité initiale au phage B Vi 3 *b*. La culture transformée présente donc les réactions du type Beccles, c'est-à-dire la lyse confluyente avec les phages B Vi Beccles, Taunton et avec le phage anti-O ; un phage est dit « indifférent » lorsqu'il ne change rien à la sensibilité initiale du type de base sur lequel on l'a fait agir.

Il y a des phages « demi-déterminants », c'est-à-dire qui ne transforment un type de base en un type analogue à celui duquel ils ont été extraits qu'avec l'aide d'un autre phage, lui aussi demi-déterminant, par exemple les deux phages primaire et secondaire, extraits du type Taunton.

Lysogénéité du type 3 b. — Scholtens [4] et nous-mêmes [2] n'avons pas réussi à déceler un phage chez les cultures de ce type. Felix et Callow [3] ont trouvé, au contraire, que les filtrats des cultures 3 b avaient une action lytique vis-à-vis du type Beccles.

A la suite de nos nouveaux essais, nous avons constaté, en effet, que le type 3 b était lysogène, mais que son phage (ou ses phages) était difficile à extraire. Il faut pratiquer, là encore, une culture mixte d'un type 3 b avec une culture du type 1. On obtient ainsi un phage qui est actif sur les cultures *d*-tartrate + et *d*-tartrate — du type 1, du type 2, du type 3 a, du type Taunton et de *S. dublin* n° 65.

Ce phage n'est pas déterminant pour le type 3 b. En contaminant avec ce phage une culture du type 1 *d*-tartrate +, on n'obtient pas la transformation en type 3 b. Cependant, comme le phage du type 3 a, il n'est pas entièrement indifférent : on observe des inhibitions paradoxales vis-à-vis de l'action du phage B Vi Beccles.

Nous supposons que certaines cultures du type 3 b élaborent un deuxième phage. Il ne nous a pas été encore possible d'isoler ce deuxième phage, mais son existence se déduit du fait suivant : les souches du type 3 b que nous avons étudiées (8 cultures) ne se comportent pas de la même façon vis-à-vis d'un mutant du phage extrait du type 3 a. Cette hétérogénéité dans leur sensibilité à ce phage ne peut guère s'expliquer que par la présence d'un deuxième phage chez les cultures résistantes et par son absence chez les cultures sensibles.

RÉSULTATS ANTÉRIEURS CONCERNANT L'OBTENTION ARTIFICIELLE DES TYPES BECCLES, TAUNTON ET DUNDEE A PARTIR DU TYPE 3 b.

Nous avons dit [2] que le type 3 b était le chef de file du groupe des types Beccles, Taunton et Dundee. En effet, ces 3 types peuvent être obtenus artificiellement à partir du type 3 b, par contamination avec les phages extraits des types naturels Beccles, Taunton et Dundee.

Rappelons succinctement nos expériences :

Obtention du type Beccles. — Le phage extrait du type Beccles transforme le type 3 b en type Beccles artificiel. C'est donc un phage déterminant.

Obtention du type Taunton. — Le filtrat total des cultures Taunton transforme le type 3 b en type Taunton artificiel. Un phage isolé du filtrat total ne produit qu'un changement incomplet. Ce phage n'est que demi-déterminant. On est en droit d'admettre l'existence d'un deuxième phage, qui doit être, lui

aussi, demi-déterminant. Un autre argument en faveur de cette hypothèse a été fourni par l'épreuve sérologique : le sérum anti-phage, obtenu en injectant le premier phage à un lapin, ne produisait qu'une neutralisation incomplète du filtrat de certaines cultures du type Taunton (souches du Bas-Rhin). Ce deuxième phage, ainsi admis par raisonnement, n'avait pas pu être isolé.

Obtention du type Dundee. — 98 p. 100 des cultures ayant donné la réaction du groupe Z (lyse confluyente avec le phage anti- « O » seulement), isolées en France en 1949 et 1950 appartenaient au type Dundee. N'ayant pas encore à notre disposition le phage B Vi Dundee, nous admettons que toutes les souches du groupe Z sont du type Dundee. De même, dans les expériences rapportées ici, lorsque nous obtenons, sous l'action de phages, le schéma du groupe Z, nous considérons provisoirement qu'il s'agit du type Dundee. Mais nous ne nous dissimulons nullement qu'il restera un doute sur l'identité exacte du type tant que nous n'aurons pas le phage B Vi Dundee. Le filtrat total des cultures Dundee [souches du Bas-Rhin] (8) transforme le type 3 b en type Dundee (groupe Z). Mais un phage de lignée pure isolé de ce filtrat ne permettait d'obtenir qu'un schéma imparfait. Il fallait donc admettre l'existence d'un second phage. Chacun des 2 phages serait demi-déterminant. Le second phage, admis là encore par raisonnement, n'avait pas été isolé.

Donc, pour les types Taunton et Dundee, nous savions qu'il y avait 2 phages, l'un et l'autre demi-déterminants, mais nous n'avions pas été en mesure d'isoler le second phage.

NOUVELLES DONNÉES CONCERNANT L'OBTENTION ARTIFICIELLE DES TYPES BECCLES, TAUNTON ET DUNDEE A PARTIR DU TYPE 3 b.

Nous avons utilisé les mêmes techniques que lors de nos recherches précédentes [1, 2]. Rappelons seulement que pour l'obtention des types artificiels, nous avons opéré de la façon suivante :

Les phages extraits des souches lysogènes sont purifiés (par isolements répétés à partir d'une plaque), puis régénérés sur une souche du type 1 (44231 de Buttiaux). Ils sont ensuite déposés en gouttes sur une plaque de gélose ensemencée avec une suspension assez dense du type de base. Après incubation de dix-huit heures à 37°, on prélève à l'anse de platine la culture secon-

(8) Nous remercions le Dr A. Lutz, directeur du Laboratoire départemental du Bas-Rhin, de nous avoir envoyé de nombreuses souches de *S. paratyphi* B.

daire formée. On la délaye dans du bouillon. Après cinq ou six heures d'étuve, la culture obtenue estensemencée sur boîte et soumise à la lysotypie.

Les phages B Vi employés pour la lysotypie de *S. paratyphi* B sont déposés en gouttes sur la géloseensemencée avec une culture dense du germe, dans l'ordre suivant : 1, 2, 3 a, 3 a 1, 3 b, Beccles, Taunton, la huitième place reçoit 1 goutte du phage anti-« O ».

Comme nous n'envisageons dans cette partie du travail que les transformations de types à partir du type 3 b et que ce type ne subit aucune réaction lytique avec les 4 premiers phages B Vi (1, 2, 3 a et 3 a 1), nous représenterons sur les schémas l'action des 4 derniers phages seulement, c'est-à-dire les phages B Vi 3 b, Beccles et Taunton et le phage anti-« O ».

Les schémas ainsi simplifiés du type 3 b et des types suivants seront figurés comme ceci :

Type 3 b.	+	+	+	+
Type Beccles	—	+	+	+
Type Taunton.	—	—	+	+
Groupe Z (type Dundee).	—	—	—	+

ETUDE DU TYPE BECCLES. — a) *Lysogénéité du type Beccles : premier phage.* — Nous confirmons l'existence, chez ce type, d'un phage déterminant. Ce phage, abondant dans les filtrats des cultures Beccles, forme sur la géloseensemencée avec une culture du type 1 des plages atteignant en moyenne 1 mm de diamètre. Au centre de ces plages se trouve un disque de culture secondaire continue, entourée d'une zone lysée annulaire dans laquelle des colonies plus ou moins isolées se groupent en couronne. Ces plages ne présentent pas de halo semi-lysé périphérique.

Deuxième phage. — Les filtrats de certaines souches Beccles provenant d'Autriche donnent, dans une culture du type 1 sur gélose, en plus des plages précédemment décrites, d'autres plages d'aspect totalement différent. Ces plages très nombreuses sont plus petites (0,2 à 0,3 mm de diamètre) et elles sont presque entièrement comblées par une culture secondaire continue. Leurs bords sont irréguliers. Elles ne peuvent guère être vues qu'à l'éclairage oblique sur fond noir. Ces plages correspondent à un deuxième phage. Celui-ci a pu être isolé. Il n'a aucune action sur les trois souches autrichiennes du type Beccles que nous avons examinées, mais il est lytique pour quelques souches Beccles françaises (10 souches sensibles sur 10 provenant de différents départements).

L'existence d'un deuxième phage chez certaines souches d'Autriche et son absence chez les souches françaises nous indiquent qu'il y a hétérogénéité du pouvoir lysogène parmi les cultures du type Beccles. La sensibilité de certaines cultures françaises à ce deuxième phage permet de penser qu'on possède ainsi un moyen

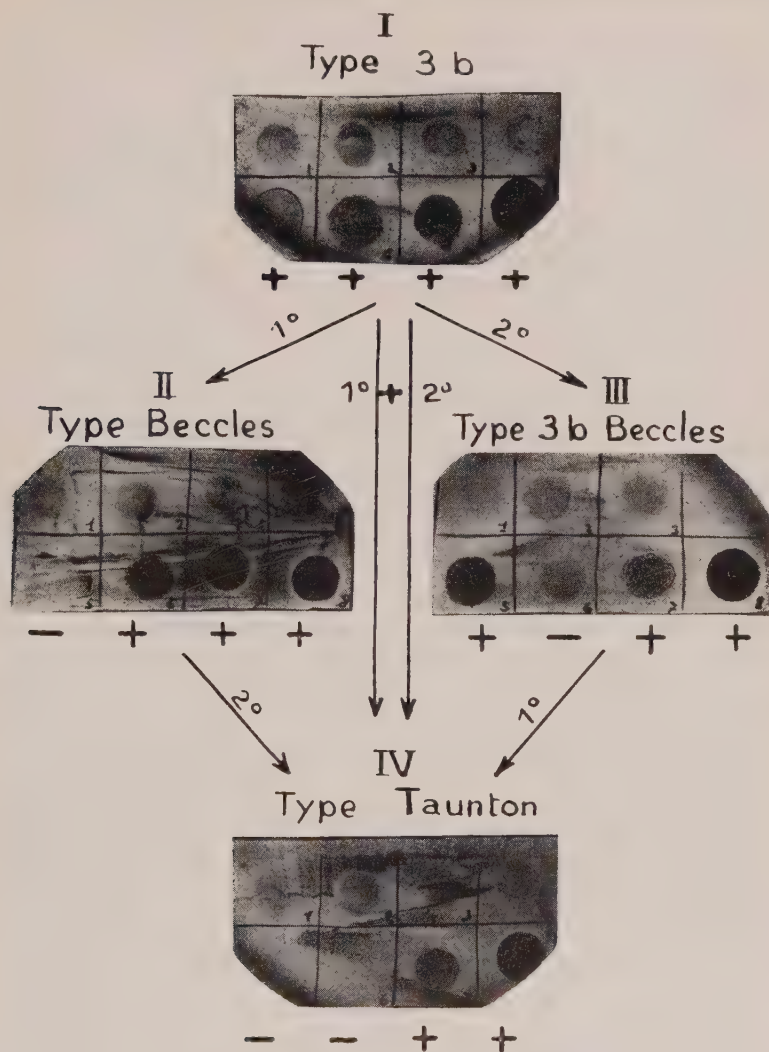


FIG. I, II, III et IV. — Transformation, d'emblée ou par étapes, du type 3b en type Taunton par contamination d'une culture de ce type par les phages de lysogénéité du type Taunton.

1° Premier phage extrait du type Taunton; 2° Deuxième phage extrait du type Taunton.

Photographies : action des phages de la lysotypie. De gauche à droite, première rangée : phages 1. 2, 3a, 3a 1. Action nulle dans tous les cas. Deuxième rangée : phages 3b, Beccles, Taunton et anti « O ». Les actions des phages sont indiquées sous chaque photo : +, action positive; —, action nulle.

N. B. — Pour la figure III, le mot « moins » de « Type 3b (moins Beccles) » a été omis.

Si l'on fait agir le deuxième phage sur une culture du type 3 *b*, déjà transformé en Beccles par l'action du premier phage, on obtient le schéma du groupe Z par extinction de la sensibilité aux phages B Vi Beccles et Taunton.

Deuxième phage de lysogénéité
du type Dundee → — + + + = — — — +
Beccles. Groupe Z.

Inversement, si l'on fait agir le premier phage sur le type 3 *b* déjà transformé en 3 *b* (moins Beccles et Taunton) par l'action du deuxième phage, on obtient par suite de l'inhibition de la sensibilité au phage B Vi 3 *b*, le schéma du groupe Z :

Premier phage de lysogénéité du
type Dundee → + — — + = — — — +
3 *b* (moins Groupe Z.
Beccles et Taunton).

Enfin, l'action simultanée des deux phages sur une culture du type 3 *b* conduit d'emblée au groupe Z :

Premier et deuxième phages de
lysogénéité du type Dundee . . → + + + = + — — — +
3 *b* Groupe Z.

Mais sur d'autres souches 3 *b*, notamment la souche B 2724 de Felix, l'action isolée ou simultanée des premier et deuxième phages Dundee ne conduit pas au schéma figuré ci-dessus. Nous ne sommes pas en mesure de proposer actuellement une explication à cette anomalie.

Troisième et quatrième phages. — Les filtrats totaux des cultures Dundee, en particulier celles du Bas-Rhin, produisent dans les cultures du type 1 sur gélose deux autres variétés de plages :

a) De petites plages d'environ 0,1 mm de diamètre, bien arrondies et assez effacées par la culture secondaire continue qui en couvre toute la surface. *A priori*, ce phage ne devrait pas être déterminant pour le type Dundee.

b) De très rares plages, beaucoup plus petites, visibles à l'aide d'une forte loupe, assez nettes, sans culture secondaire. Ces plages correspondent-elles réellement à un quatrième phage ? L'étude en cours nous apportera sans doute la réponse à cette question.

DISCUSSION.

a) Nos nouvelles expériences nous ont montré que les types 1, 3 *a* et 3 *b*, provisoirement admis comme dépourvus de lysogé-

néité, étaient en réalité lysogènes, comme Felix et Callow l'ont vu.

La lysogénéité du type 1, en dehors de l'espèce, peut être mise en évidence par l'action des filtrats sur la souche *S. dublin* n° 65, comme Scholtens l'avait signalé. Mais le type 1 est également lysogène pour l'espèce *S. paratyphi* B : une souche du type 1, jusqu'à présent unique, de bacille paratyphique B (n° 44231 de Buttiaux) douée du pouvoir d'attaquer le *d.tartrate* s'est montrée très sensible au phage de plusieurs cultures du même type, dépourvues de cette propriété fermentaire. Le type 1, dans ses formes *d.tartrate*-négatives, est donc lysogène pour l'espèce.

Jusqu'à présent, la souche *d.tartrate*-positive du type 1 n'a manifesté aucun pouvoir lytique sur les souches *d.tartrate*-négatives de *S. paratyphi* B, ni sur la souche B 65 de *S. dublin*. Il est impossible d'affirmer qu'elle n'est pas lysogène ; mais on doit admettre qu'elle n'élabore pas de phage identique à celui qui est présent dans les filtrats de cultures *d.tartrate*-négatives du type n° 1.

Le type 1 n'est donc pas homogène dans son état de lysogénéité, ni, par corollaire, dans son état de lyso-sensibilité.

Ce fait conduit à se demander, d'une part, si l'aptitude à faire fermenter le *d.tartrate* n'est pas liée à la non-lysogénéité (provisoirement admise) et, d'autre part, s'il n'y a pas un rapport entre la lysogénéité et le pouvoir pathogène : certains auteurs pensent que les bacilles n'attaquant pas le *d.tartrate* sont les agents de la forme typhoïdique de l'infection, tandis que les bacilles attaquant le *d.tartrate* produiraient, chez les adultes du moins, de préférence le syndrome d'intoxication gastro-intestinale [6, 7, 8].

Les types 3 *a* et 3 *b* sont également lysogènes pour l'espèce *S. paratyphi* B, mais leurs phages sont beaucoup plus difficiles à déceler et à isoler. Leurs filtrats sont généralement dépourvus de corpuscules, ou très pauvres. Seule la culture mixte de ces bacilles avec la souche du type 1 *d.tartrate*-positive fournit régulièrement des filtrats doués de pouvoir lytique. Les phages extraits de ces types ne paraissent pas « déterminants », c'est-à-dire que mis en présence d'une culture du type 1, ils ne transforment pas cette culture respectivement en types 3 *a* et 3 *b*, comme cela se produit pour les phages « déterminants » extraits des autres types. Il ne semble pas y avoir de filiation entre les types 1, 3 *a* et 3 *b*. Ces types occupent une place spéciale. La notion de « type de base », que nous leur avons appliquée dans nos deux premiers mémoires, garde donc son intérêt, malgré la disparition du caractère provisoire de non-lysogénéité que nous leur avons attribué.

Les phages extraits des types 3 *a* et 3 *b* ne sont pas cepen-

dant indifférents vis-à-vis du type 1. S'ils ne transforment pas les cultures de ce type en types 3 *a* et 3 *b* (comme on serait en droit de l'attendre), ils font subir à ces bacilles une inhibition paradoxale de leur sensibilité initiale aux phages B Vi Beccles (pour 3 *a* et 3 *b*) et quelquefois au phage B Vi Taunton (pour 3 *a* seulement. Ce phénomène reste inexpliqué.

L'impossibilité actuelle de passer par l'action des phages de lysogénéité du type 1 aux types 3 *a* et 3 *b* d'une part, la nécessité où nous nous sommes trouvés jusqu'à présent de partir d'un des « types de base », à l'exclusion des deux autres pour obtenir un type donné (type 1 pour le type 2, type 3 *a* pour les types 3 *a* 1 et 3 *a* (moins 3 *b*); type 3 *b* pour les types Beccles, Taunton, B. A. O. R. et probablement Dundee) d'autre part, enfin les inhibitions paradoxales produites par le matériel de lysogénéité des types 3 *a* et 3 *b*, suggèrent que la lysogénéité n'est vraisemblablement pas le seul facteur qui imprime les caractères lysotypiques à la cellule bactérienne. Il nous paraît légitime d'admettre des facteurs plus intimement bactériens.

b) Les faits apportés dans ce travail confirment les précisions que nous avons formulées dans nos mémoires précédents au sujet des phages déterminants des types Beccles et Taunton. Les phages dont nous avons admis l'existence par le raisonnement ont été isolés, étudiés et les résultats ont été entièrement conformes à notre attente : présence d'un seul phage déterminant chez le type Beccles, et de deux phages demi-déterminants chez le type Taunton, en utilisant dans les deux cas le type de base 3 *b*.

Pour le type Dundee, nos résultats ne peuvent être donnés que sous réserve, puisque nous ne possédons pas le phage B Vi Dundee et que, de plus, certaines souches 3 *b* ont réagi de façon anormale.

En définitive, dans les actions combinées des phages demi-déterminants, le schéma final résulte de la somme des inhibitions obtenues avec chaque phage employé seul.

c) Nos résultats nous permettent de saisir l'analogie qui existe entre certains phages de lysogénéité (« natural » phages de Felix) et les phages B Vi utilisés pour la lysotypie (« adapted » phages du même auteur). Il est clair, en effet, qu'un phage qui produit une inhibition de la sensibilité d'une culture à un phage B Vi est, sinon identique, du moins proche parent de ce dernier. Ceci se vérifie principalement pour les types dérivés du type 3 *b* : ainsi le phage déterminant unique du type Beccles et les premiers phages demi-déterminants extraits des types Beccles et Dundee sont analogues aux phages B Vi 3 *b*, puisqu'en contaminant le type 3 *b* initial, ils le transforment en type Beccles par extinction de la sensibilité au phage B Vi 3 *b*. De même, le deuxième phage demi-déterminant extrait du type Taunton est analogue au phage B Vi

Beccles, puisqu'il inhibe, chez les cultures 3 *b* sur lesquelles on l'a fait agir, l'action de ce phage.

Nos conclusions sont donc en complet accord sur ce point avec celles de Felix et Callow [3].

d) L'étude approfondie de la lysogénéité des différents types de bacilles paratyphiques B nous a permis de constater que cette propriété s'étend à toute l'espèce *S. paratyphi* B, puisque tous les types sont lysogènes et que certains types élaborent 3 et peut-être même 4 phages différents. L'amélioration des techniques et la recherche de cultures révélatrices nouvelles dans l'espèce et hors de l'espèce ne pourront qu'accentuer ce caractère déjà très général. Il serait assez surprenant que la souche 44231 *d.tartrate*-positive appartenant au type 1, pour laquelle nos tentatives ont échoué jusqu'à présent, fût vraiment dépourvue de lysogénéité.

La fréquence, la diversité du caractère lysogène et le nombre de phages présents dans une même culture, pour cette espèce, nous paraissent difficilement compatibles avec la théorie parasitaire de d'Hérelle.

e) Nos résultats démontrent que la lysogénéité des différents types de *S. paratyphi* B augmente assez régulièrement en complexité du type 1 au type Dundee.

f) La transformation des types par contamination artificielle avec les phages extraits des types lysogènes, en particulier l'obtention à partir du type de base 3 *b*, des types Beccles, Taunton et probablement Dundee, établit une filiation intéressante entre ces types. Cette filiation est-elle la reproduction d'une filiation naturelle ? Dans ce cas, les types de base devraient être considérés peut-être comme les types initiaux dont les autres dériveraient par contamination avec des phages rencontrés occasionnellement dans l'intestin humain ou dans les milieux naturels.

Ou bien, ne représenteraient-ils pas au contraire le terme ultime d'une dégradation par perte progressive du matériel de lysogénéité ? Contre ces hypothèses vient s'inscrire en faux la remarquable stabilité des types bactériophagiques de *S. paratyphi* B, mais nous devons convenir que nous ignorons tout des facteurs de stabilité qui peuvent intervenir. En faveur de la deuxième hypothèse, on peut invoquer les faits signalés par Felix et Callow [3] concernant la « dégradation » des souches Beccles vers une sensibilité plus étendue au phage de la lysotypie aboutissant même au schéma du type 1, c'est-à-dire vers la sensibilité à tous les phages B Vi. Toutefois, cette « dégradation » doit être relativement rare.

RÉSUMÉ.

Le présent travail précise et complète nos mémoires précédents sur l'extrême fréquence de la lysogénéité dans l'espèce *S. para-*

typhi B. Nous avons réussi à isoler des phages de tous les types de Felix et Callow. Seule, une souche du type 1, caractérisée par son pouvoir fermentaire sur le *d.tartrate* n'a pas libéré de phage dans les conditions de nos expériences.

Nous avons pu reproduire les transformations de types à partir des 3 types de base 1, 3 *a* et 3 *b* par contamination artificielle avec les phages isolés des autres types, au lieu d'employer des filtrats bruts dans lesquels l'existence de phages complémentaires avait été déduite par raisonnement.

La signification de la lysogénéité étendue à toute l'espèce et celle de la filiation artificiellement établie entre divers types à partir des types de base sont discutées.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] P. NICOLLE, Y. HAMON et E. EDLINGER. *Ces Annales*, 1951, **80**, 479.
- [2] Y. HAMON et P. NICOLLE. *Ces Annales*, 1951, **80**, 496.
- [3] A. FELIX et B. R. CALLOW. Communication personnelle et *Lancet*, 1951, **261**, 10.
- [4] R. Th. SCHOLTENS. *Anton. v. Leeuwenhoek*, 1950, **16**, 256.
- [5] P. NICOLLE, A. JUDE et Y. HAMON. *Rev. Immunol.*, 1951, **15**, 39.
- [6] H. C. BROWN, J. T. DUNCAN et T. A. HENRY. *J. Hyg.*, 1924, **23**, 1 et *Lancet*, 1926, **1**, 117.
- [7] M. KRISTENSEN et K. BOJLEN. *Zentralbl. Bakt.*, 1936, **136**, 294.
- [8] M. KRISTENSEN et F. KAUFFMANN. *Zeitschr. Hyg.*, 1937, **120**, 149.

**ACTIONS DE LA PÉNICILLINE
ET DE LA STREPTOMYCINE SUR LE CATABOLISME
DES RIBONUCLÉOTIDES CHEZ UNE BACTÉRIE AÉROBIE
*STAPHYLOCOCCUS ALBUS***

par COLETTE LATTERRADE et MICHEL MACHEBOEUF.

(Institut Pasteur, Paris.)

Gros et Machebœuf, ainsi que Krampitz et Werkman, travaillant par des méthodes différentes, ont conclu que la pénicilline et la streptomycine agissaient sur les bactéries en influençant fortement le catabolisme des ribonucléotides. Gros et Machebœuf [1] étudiaient l'apparition des produits de lyse des mononucléotides chez une bactérie anaérobie, *Clostridium sporogenes*, tandis que Krampitz et Werkman [2] étudiaient l'oxydation du ribose des nucléotides chez une bactérie aérobie, *Staphylococcus aureus* (souche de sensibilité normale aux deux antibiotiques). Nous avons étudié l'influence des antibiotiques sur la lyse de mononucléotides chez une bactérie aérobie qui possède une phosphomononucléotidase très active, *Staphylococcus albus*. Gros et Machebœuf avaient observé que des systèmes phosphatasiques non microbiens n'étaient pas sensibles aux antibiotiques étudiés et l'on pouvait se demander si la libération des ions phosphoriques à partir des nucléotides pouvait être influencée par les antibiotiques chez une bactérie ayant un système phosphatasique actif. L'action sur la libération des ions phosphoriques que ces auteurs avaient observée chez une bactérie sans phosphomononucléotidase pouvait être la conséquence d'une action de l'antibiotique sur une autre étape du catabolisme des mononucléotides. Gros et Machebœuf ont d'ailleurs récemment [3] localisé l'action de l'antibiotique à la scission entre ribose et bases dans le cas de la pénicilline. On pouvait donc prévoir que la libération des ions phosphoriques à partir des mononucléotides ne serait pas influencée dans le cas de *Staphylococcus albus*. C'est ce que l'expérience nous a permis de vérifier.

Nous avons opéré sur des bactéries non proliférantes en suspensions épaisses contenant, en moyenne, 45 mg de corps bactériens (poids sec) par millilitre. Certains témoins furent

maintenus tels quels à 37° C pour juger de la libération d'ions phosphoriques par autolyse. Des échantillons semblables furent préalablement additionnés de nucléotides, en présence ou en l'absence de pénicilline ou de streptomycine à doses très élevées (1 000 unités Oxford par millilitre).

1° Mononucléotides isolés :

	PHOSPHORE des phosphates au temps zéro	PHOSPHORE des phosphates après 24 heures	
		Acide adénylique	Acide cytidylique
Germes seuls	187 ± 7	330	330
Germes + pénicilline	187 ± 7	330	330
Germes + streptomycine	187 ± 7	300	300
Germes + nucléotides	187 ± 7	680	485
Germes + nucléotides + pénicilline . .	187 ± 7	630	525
Germes + nucléotides + streptomycine .	187 ± 7	600	445

2° Mélange des 4 mononucléotides (1) :

	0 HEURE	15 HEURES	24 HEURES
Germes seuls	180	200	290
Germes + pénicilline	180	240	260
Germes + streptomycine	180	260	250
Nucléotides + germes	230	400	460
Nucléotides + germes + pénicilline . . .	250	390	470
Nucléotides + germes + streptomycine . .	250	380	460

Les mononucléotides étudiés furent : les acides cytidylique et adénylique. Nous avons, en outre, étudié le mélange des 4 mononucléotides obtenu directement par hydrolyse d'acide ribonucléique purifié, de Levure (*hydrolyse ammoniacale*). Dans tous les cas, les résultats furent très probants : la pénicilline, même à haute concentration, n'inhibe pas la libération des ions phosphoriques à partir des mononucléotides par *Staphylococcus albus*. La libération des ions phosphoriques fut suivie par des dosages selon Briggs [4] après défécation trichloracétique. Les dosages furent effectués après quinze heures et après vingt-quatre heures.

(1) Le mélange des 4 nucléotides contenait, malgré les tentatives de purification, de petites quantités de phosphates qui correspondaient environ à 50 microgrammes, comme le prouvent les chiffres de la première colonne du tableau.

Les résultats furent concordants. Nous ne donnons dans le tableau ci-contre que les chiffres obtenus à la vingt-quatrième heure. Ils sont exprimés en microgrammes de phosphore des ions phosphoriques par millilitre de l'émulsion bactérienne à laquelle on avait ajouté 5 mg de nucléotides par millilitre.

RÉSUMÉ.

Chez *Staphylococcus albus*, qui possède un système phosphomononucléotidasique actif, la pénicilline et la streptomycine n'ont pas d'action inhibitrice appréciable sur la libération d'ions phosphoriques à partir des ribomononucléotides. L'action de ces antibiotiques sur le catabolisme ribonucléique qu'ont démontrée d'autres travaux [1, 2] n'est donc pas localisée sur la lyse de la liaison ester phosphorique des mononucléotides sous l'influence d'une phosphatase, mais sur une autre étape du métabolisme.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] F. GROS et M. MACHEBOEUF. *Ces Annales*, 1948, **74**, 368.
- [2] KRAMPITZ et WERKMAN. *Arch. Biochem.*, 1947, **42**, 57.
- [3] F. GROS, BELJANSKI et M. MACHEBOEUF. *C. R. Acad. Sci.*, 1950, **231**, 184.
- [4] BRIGGS. *J. Biol. Chem.*, 1922, **53**, 13.

INFLUENCE DU RIBONUCLÉATE DE SODIUM SUR LA CROISSANCE D'UNE BACTÉRIE EN PRÉSENCE ET EN L'ABSENCE DE PÉNICILLINE

par COLETTE LATERRADE-AUGER et MICHEL MACHEBOEUF.

(Institut Pasteur. Paris.)

On considère aujourd'hui que le point d'attaque essentiel de la pénicilline sur les bactéries sensibles est le métabolisme de l'acide ribonucléique. Gros et Macheboeuf [1], Krampitz et Werkman [2] ont en effet montré son rôle inhibiteur vis-à-vis du métabolisme des monoribonucléotides. Gros, Beljansky et Macheboeuf ont même pu récemment [3] localiser cette action au niveau du stade de la scission des nucléosides et tout particulièrement du guanoside. Il est très probable que l'action de la pénicilline porte non seulement sur le catabolisme, mais aussi sur l'anabolisme des composés ribonucléiques. Vendrely [4] et Gale [5] ont effectivement constaté le freinage par l'antibiotique de la synthèse de l'acide ribonucléique et Mitchell [6] a précisé les faits en montrant que des bactéries se développant en présence de très faibles doses de pénicilline accumulent abondamment en leur sein des mononucléotides puriques et aussi, mais à un degré beaucoup moindre, des acides nucléiques (1).

On pouvait donc se demander si de l'acide ribonucléique ajouté au milieu de culture ne pouvait pas avoir une action antagoniste vis-à-vis de la pénicilline. Divers auteurs ont étudié ce problème, mais obtiennent des résultats discordants.

En 1947, Pandalaï et Georges [7] affirment que le ribonucléate de sodium est antagoniste de la pénicilline vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* et de *Bacillus subtilis*; et même que des bactéries dont la croissance est inhibée par une dose convenable de pénicilline recommencent à se développer lorsqu'on leur ajoute du ribonucléate.

En 1948, Faguet [8] confirme ces conclusions, mais constate que l'effet antagoniste de l'acide nucléique est très inconstant, car il ne se manifeste pas dans toutes ses séries d'expériences. Frieden et Frazier [9] affirment enfin que l'action antagoniste de l'acide ribonucléique est extrêmement faible.

(1) MITCHELL ne dosait pas séparément les dérivés désoxyribonucléiques et les ribonucléiques, mais leur somme.

Nous avons repris l'étude du problème en cherchant à préciser le mieux possible les conditions expérimentales et en particulier la phase de croissance des germes soumis à l'action de l'antibiotique et de l'acide ribonucléique. Notre étude a porté sur une souche de *Staphylococcus albus* sensible à l'action antibiotique de la pénicilline. Le milieu de culture fut du bouillon de viande ordinaire à pH 7,4. A titre de comparaison, nous avons parfois utilisé de l'eau peptonée glucosée à 0,3 p. 100.

Le simple examen visuel direct ne révéla jamais de différence nette entre les cultures effectuées en présence de petites doses de pénicilline avec ou sans ribonucléate. Nous avons donc suivi l'évolution de nos cultures par néphélométrie en utilisant un photoabsorptiomètre à cellule photoélectrique, l'appareil de Meunier avec écran orangé. Nous examinions toutes les soixante minutes un échantillon de la culture prélevé aseptiquement après homogénéisation. Dans toutes les courbes que nous présentons ci-après, les ordonnées représentent, en unités arbitraires, les valeurs fournies par les lectures photométriques (chaque unité correspond à une division du tambour gradué de l'appareil de Meunier). Les abscisses correspondent au temps (en heures).

Dans une première série d'expériences, les concentrations en pénicilline étaient légèrement supérieures à la limite inférieure bactériostatique.

Dans une deuxième série d'expériences, au contraire, nous avons choisi des concentrations en pénicilline légèrement inférieures à cette limite afin d'opérer avec des bactéries en croissance légère.

Dans chaque cas on effectuait la comparaison avec des cultures témoins se développant dans les mêmes conditions, mais sans antibiotique et sans ribonucléate. D'autres témoins contenaient du ribonucléate, mais pas de pénicilline.

Dans chaque série d'expériences, des essais furent effectués en introduisant l'antibiotique ou l'acide nucléique à des temps différents, c'est-à-dire pendant des phases différentes de la croissance.

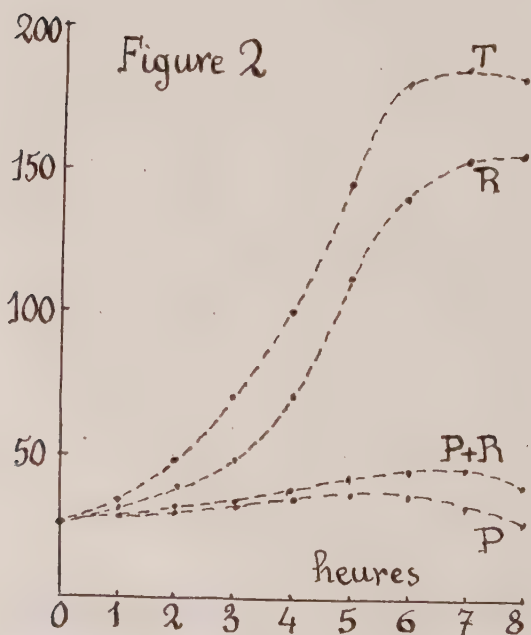
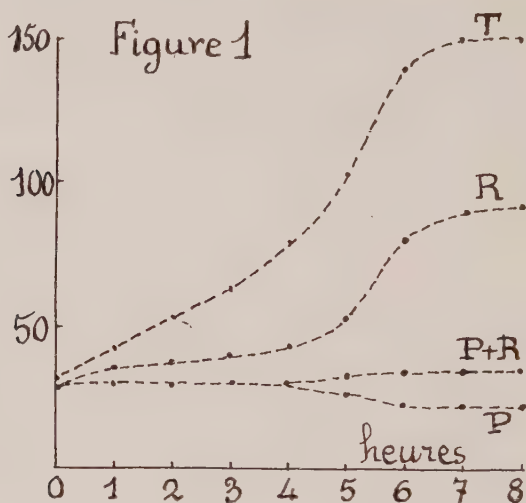
Le ribonucléate de sodium utilisé provenait des établissements Byla. Le pH de sa solution était ajusté à 7.

La pénicilline utilisée était de la spécilline G hautement purifiée (pénicilline-étalon). L'ensemencement des cultures était effectué à partir de cultures de seize heures.

I. — EXPÉRIENCES AVEC DES CONCENTRATIONS EN PÉNICILLINE LÉGÈREMENT SUPÉRIEURES A LA LIMITE BACTÉRIOSTATIQUE.

A. LA PÉNICILLINE ET LE RIBONUCLÉATE SONT AJOUTÉS A L'INSTANT MÊME DE L'ENSEMENCEMENT. - Dans cette série d'expériences nous

avons comparé des essais en bouillon et des essais en eau peptonée glucosée. Les résultats furent pratiquement identiques



(voir fig. 1 et 2). Aussi avons-nous ensuite seulement utilisé le bouillon ordinaire.

La figure 1 correspond à 4 expériences effectuées parallèlement en bouillon. La courbe T correspond au témoin sans antibiotique et sans acide nucléique. La courbe R correspond à un témoin contenant du ribonucléate de sodium introduit à l'instant zéro à la concentration de 2 mg par millilitre. La courbe P correspond à la culture dans laquelle de la pénicilline fut introduite à l'instant zéro à la concentration de 0,05 unité Oxford par millilitre. La concentration limite bactériostatique dans les conditions de nos expériences était 0,04 unité par millilitre. La courbe P + R correspond à la culture effectuée en présence de pénicilline et de ribonucléate à des concentrations respectivement identiques à celles des cultures qui fournirent les courbes P et R.

La figure 2 correspond à des expériences semblables effectuées dans de l'eau peptonée glucosée. Toutes ces séries d'expériences furent reproduites trois fois chacune et les résultats furent toujours pratiquement identiques.

Les conclusions de ces essais sont les suivantes :

1° Le ribonucléate de sodium, à lui seul, suffit à freiner nettement la croissance, surtout pendant les premières heures. Ce fait était inattendu. Il n'avait pas été noté jusqu'ici, à notre connaissance. Ce pouvoir bactériostatique léger, mais net, que nous observons pour le ribonucléate, mériterait une étude particulière, mais ceci nous éloignerait du but du présent travail (2).

2° La comparaison des courbes R et P + R montre que le ribonucléate, dans ces conditions, a une action antagoniste extrêmement faible, à peine significative vis-à-vis de la pénicilline.

B. LA PÉNICILLINE ET LE RIBONUCLÉATE SONT INTRODUIITS APRÈS LA PÉRIODE DE LATENCE, AU DÉBUT DE LA PHASE DE CROISSANCE EXPONENTIELLE, C'EST-À-DIRE DEUX HEURES APRÈS L'ENSEMENCEMENT. — Cette série d'expériences fut effectuée sur bouillon ordinaire. Les lettres désignant les courbes (fig. 3) sont les mêmes que pour les expériences précédentes. Les concentrations en pénicilline et en ribonucléate sont également les mêmes.

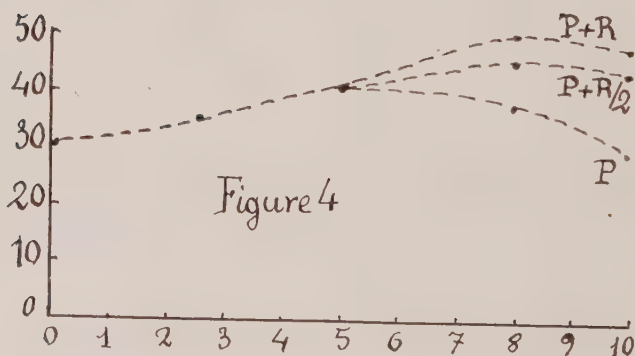
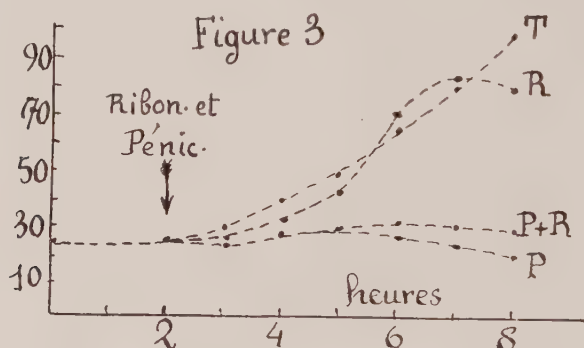
Les conclusions de cette série d'expériences sont les mêmes que pour les séries précédentes. Donc, lorsque la concentration

(2) La comparaison des courbes T et R conduit à penser que le ribonucléate se comporte comme s'il prolongeait la phase de latence de la culture. Dans la culture témoin sans ribonucléate, la phase de latence était très petite puisque nos ensemencements étaient effectués avec des germes provenant d'une culture ensemencée depuis seulement seize heures. L'action du ribonucléate sur la croissance n'est pas un simple effet d'électrolyte, car des témoins effectués avec des doses équimoléculaires de NaCl ont eu une croissance normale pendant les premières heures. Seule, la limite atteinte par la masse des microbes était légèrement influencée par NaCl.

en pénicilline dépasse la concentration limite inférieure antibiotique, le ribonucléate de sodium ne présente pas un pouvoir antagoniste très net, on observe tout au plus un très léger antagonisme dépassant à peine les erreurs expérimentales.

II. — EXPÉRIENCES AVEC DES CONCENTRATIONS EN PÉNICILLINE LÉGÈREMENT INFÉRIEURES A LA LIMITE BACTÉRIOSTATIQUE.

Dans ces essais, la concentration en pénicilline fut 0,03 unité par millilitre, alors que la concentration limite antibiotique était



0,04 unité par millilitre. On observait donc une légère croissance suivie d'une lyse débutant vers la cinquième heure (voir courbe P de la figure 4).

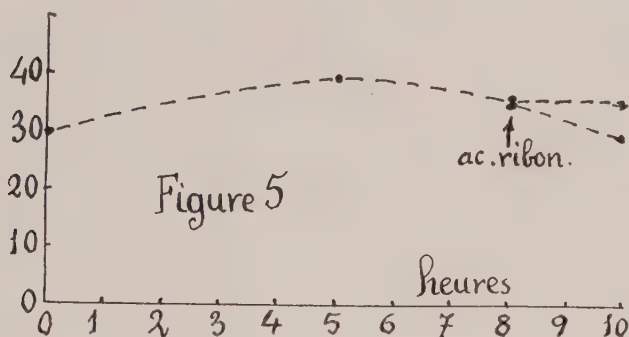
A. LA PÉNICILLINE ET LE RIBONUCLÉATE SONT INTRODUIITS A L'INSTANT MÊME DE L'ENSEMENCEMENT. — Dans la figure 4, les lettres ont la même signification que dans les figures précédentes, mais, pour étudier l'influence des concentrations variables de ribonucléate, nous avons tracé en outre la courbe P + R/2 pour

laquelle la concentration de ribonucléate était seulement la moitié de celle correspondant à $P + R$.

Dans ces expériences, l'action antagoniste du ribonucléate vis-à-vis de la pénicilline apparaît plus nettement que dans les expériences effectuées avec des doses supérieures de pénicilline. Mais notons qu'il s'agit uniquement d'une influence antilytique, car la croissance pendant les quatre premières heures n'est pas du tout favorisée par le ribonucléate, tandis que la lyse ultérieure est supprimée.

On note même que la croissance continue en présence de ribonucléate lorsque la lyse commence dans les cultures qui contiennent de la pénicilline sans addition de ribonucléate.

Pour vérifier cette action antilytique, nous avons effectué une



expérience dans laquelle le ribonucléate ne fut introduit qu'à la huitième heure, c'est-à-dire lorsque la lyse évoluait déjà depuis quelque temps. L'introduction du ribonucléate arrêta aussitôt la descente de la courbe (fig. 5).

Croissance post-lytique. — Toutes les courbes ci-dessus s'arrêtent à la huitième heure après l'ensemencement, mais nous avons eu soin d'examiner encore les cultures le lendemain matin, à la vingt-quatrième heure, pour juger de l'influence du ribonucléate sur la croissance post-lytique (3). Cette influence est nette.

C'est ainsi que dans la série d'expériences qui correspond à la figure 4, les lectures néphélométriques à la vingt-quatrième heure donnèrent les résultats suivants :

Courbe P : 83 divisions du tambour.

Courbe $P + R/2$: 84 divisions du tambour.

(3) Nous entendons par *croissance post-lytique* le phénomène observé parfois par Welsch [10] et par Bonét-Maury [11]. Ce phénomène est très net dans les conditions où nous opérons.

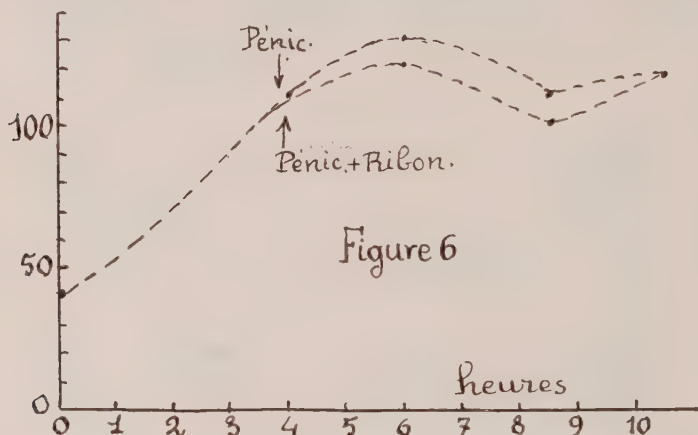
Courbe P + R : 116 divisions du tambour.

Dans l'expérience correspondant à la figure 5, où le ribonucléate fut ajouté seulement à la huitième heure, nous avons trouvé, à la vingt-quatrième heure :

Pour la courbe P : 83 divisions.

Pour la courbe P + R : 120 divisions.

Le ribonucléate favorise donc très nettement la croissance post-lytique des staphylocoques en présence de doses faibles de pénicilline, et c'est peut-être cet effet qu'observèrent certains des auteurs qui avaient annoncé une très forte action antagoniste du ribonucléate vis-à-vis de l'action antibiotique de la pénicilline.



Mais nous allons voir que les faits sont assez différents lorsque l'on s'adresse à des bactéries en pleine phase exponentielle de croissance.

B. LA PÉNICILLINE ET LE RIBONUCLÉATE SONT INTRODUIES LORSQUE LES BACTÉRIES SONT À UN STADE DÉJÀ AVANCÉ DE LEUR PHASE EXPONENTIELLE DE CROISSANCE. — Dans ces expériences, l'antibiotique et le ribonucléate furent ajoutés simultanément quatre heures après l'ensemencement de la culture. L'effet antagoniste du ribonucléate vis-à-vis de la pénicilline est alors nul ; même en ce qui concerne la croissance post-lytique [au moins pour la limite de vingt-quatre heures que nous nous sommes fixée] (4).

(4) On note encore ici, d'une façon très nette, l'action inhibitrice du ribonucléate sur la croissance, en l'absence de pénicilline, effet que nous avons observé ci-dessus dans toutes les expériences. Le pouvoir inhibiteur du ribonucléate sur la croissance (indépendamment de la pénicilline) est donc général, quel que soit l'instant de l'introduction dans la culture.

La figure 6 correspond à l'une de nos séries d'expériences de ce type.

Les lectures effectuées après vingt-quatre heures donnaient les résultats suivants :

Courbe P : 40.

Courbe P + R : 46.

La lyse est donc à peu près complète dans les deux cas et la différence est extrêmement faible.

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS.

1° Le ribonucléate de sodium a une légère action inhibitrice sur la croissance de *Staphylococcus albus* dans le bouillon ou dans l'eau peptonée glucosée. Cette action se manifeste aussi bien si le ribonucléate est introduit pendant la phase de latence ou pendant la phase exponentielle de croissance bactérienne.

2° Le ribonucléate de sodium présente dans certaines conditions particulières une légère action antagoniste vis-à-vis de la pénicilline. Lorsque la concentration de pénicilline est supérieure à la limite bactériostatique, le ribonucléate ne manifeste pas un pouvoir antagoniste très appréciable. Lorsque la dose de pénicilline est un peu inférieure à la limite bactériostatique, le pouvoir antagoniste du ribonucléate apparaît plus nettement, mais il ne s'agit pas d'une action favorisant directement la croissance bactérienne. C'est avant tout un pouvoir antilytique que l'on observe.

Par contre, l'action du ribonucléate sur la croissance post-lytique est très nette, sauf si l'on s'adresse à des bactéries en pleine phase de croissance logarithmique. Dans ce cas, en effet, l'action antagoniste du ribonucléate et son action antilytique sont nulles dans la limite du temps étudié. Les conditions de l'expérience influent donc profondément sur les résultats obtenus et ceci explique les divergences entre les conclusions des auteurs qui ont étudié le problème jusqu'ici.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] F. GROS et M. MACHEBOEUF. *Ces Annales*, 1948, **74**, 368.
- [2] KRAMPITZ et WERKMAN. *Arch. Biochem.*, 1947, **12**, 57.
- [3] F. GROS, M. BELJANSKI et M. MACHEBOEUF. (Sous presse).
- [4] VENDRELY, TULASNE et MINCK. *C. R. Soc. Biol.*, 1948, **142**, 239.
- [5] GALE. *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 1948, **83**, 119.
- [6] P. MITCHELL. *Nature*, 1949, **164**.
- [7] PANDALAI et GEORGES. *Brit. Med. J.*, 1947, **2**, 210.
- [8] M. FAGUET. *Ces Annales*, 1948, **74**, 75.
- [9] FRIEDEN et FRAZIER. *Arch. Biochem.*, 1947, **15**, 265.
- [10] WELSCH. *C. R. Soc. Biol.*, 1947, **141**, 436.
- [11] BONÉT-MAURY. *Ces Annales*, 1946, **72**, 135.

**ACTION DU VENIN DE *VIPERA ASPIS*
SUR LA MORPHOLOGIE
DES FIBROBLASTES D'EMBRYON DE POULET CULTIVÉS
IN VITRO**

par E. LASFARGUES et J. DI FINE-LASFARGUES (*).

(Institut Pasteur, Annexe de Garches.)

Au cours d'une étude antérieure sur le pouvoir nécrosant des toxines microbiennes [1] nous avons constaté que l'injection intradermique de 0.5 ml de toxine staphylococcique provoquait chez le cobaye l'apparition rapide, au lieu d'injection, d'une nécrose hémorragique, molle, suivie après vingt-quatre heures d'une escarre sèche. Des fragments de rate de cobaye cultivés dans un milieu contenant cette toxine donnaient lieu à une très faible migration cellulaire : retransplantés après quarante-huit heures en milieu normal, l'inhibition était totale par suite de la mort du tissu.

Les venins de serpent semblent agir de même : Levaditi et Muttermilch [2] ont montré l'extrême toxicité du venin de cobra, dont l'action létale sur les cultures de tissus peut se manifester bien au delà du 1/100 000. A la dilution du 1/1 000, les cultures sont tuées en trente secondes.

Le venin de vipère est également actif, mais à un degré moindre. L'injection intradermique de 0.5 ml d'une solution au 1/1 000 du venin de *Vipera aspis* provoque en vingt-quatre heures, chez le cobaye, une large nécrose circulaire de 2 cm de diamètre. Celle-ci donne lieu plus tard à une escarre humide. Introduit dans le milieu de culture, ce venin inhibe jusqu'au 1/5 000 la croissance *in vitro* de fragments de rate de cobaye cultivés en milieu homologué. Au 1/10 000 la migration cellulaire reste pratiquement nulle : seules quelques cellules rondes au protoplasme granuleux peuvent être observées. Cependant, si après quarante-

* Société Française de Microbiologie, séance du 5 juillet 1951.

Nous tenons à exprimer ici tous nos remerciements au Dr P. ROQUET qui, par ses conseils et les produits qu'il nous a obligeamment fournis, nous a aidés dans la réalisation de ce travail.

huit heures les fragments sont retransplantés dans un milieu neuf sans venin, la migration cellulaire se produit normalement et avec autant d'abondance que dans les cultures témoin dont les fragments n'ont pas été préalablement soumis à l'action du venin. Cette observation nous a paru suffisamment intéressante pour justifier une étude plus détaillée de ce phénomène.

En faisant agir le venin de *Vipera aspis* sur des cultures de myocarde embryonnaire de poulet (1), matériel plus facile à manier, nous avons obtenu des résultats identiques. Il nous a également été possible de montrer que ce pouvoir inhibiteur n'est pas dû à une modification profonde des qualités nutritives du milieu par le venin, mais à une action directe sur les cellules elles-mêmes [3].

Technique. — Les modifications morphologiques ont été étudiées sur les fibroblastes du myocarde de poulet embryonnaire cultivés sur lamelles de verre fines, en milieu liquide.

Dans un premier temps, les fragments de tissu fraîchement prélevés sont déposés sur des lamelles couvre-objet *très propres* et recouvertes par 1 goutte de milieu nutritif normal (extrait embryonnaire, 1 partie ; solution de Tyrode, 4). Avec une pipette l'excès du milieu est prélevé de façon que les fragments paraissent en saillie sur la lamelle et que la tension superficielle les applique fermement contre celle-ci. Après trente à quarante heures d'incubation à 37° C, environ 60 à 70 p. 100 des préparations présentent une belle couronne de fibroblastes s'étalant en couche mince unicellulaire et qui se prêtent admirablement à l'observation microscopique.

Le second temps consiste à laver soigneusement chacune des cultures ainsi obtenues avec une solution de Ringer, ce qui est facile, étant donné l'absence de plasma. Des concentrations diverses de venin (1/5 000, 1/10 000, 1/20 000, 1/50 000) en solution de Tyrode-extrait embryonnaire, sont ensuite distribuées sur les cultures. Celles-ci, examinées à intervalles réguliers, nous renseignent sur le temps d'action du venin, ainsi que sur les modifications morphologiques ou physico-chimiques dont les cellules sont le siège.

RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX.

a) *Temps d'action du venin.* — D'une façon générale, les cultures sur verre sont plus sensibles au venin que lorsqu'elles sont préparées dans du plasma. Le venin, selon sa concentration, agit en détruisant plus ou moins rapidement les cellules migratrices. A la dilution du 1/5 000 les premières lésions cellulaires apparaissent cinq minutes après l'application du venin et devien-

(1) Le tissu est prélevé sur des embryons au neuvième ou dixième jour d'incubation et cultivé par la méthode des gouttes pendantes en milieu homologe.

nent très caractérisées après quinze minutes. Les battements du myocarde augmentent de fréquence. Après quinze à vingt heures ces battements sont encore très évidents sur quelques fragments, mais il n'y a plus de zone migratrice, simplement des amas de débris cellulaires.

Au 1/10 000 l'action du venin ne commence à se manifester qu'après quelques heures de contact. Au 1/20 000 la destruction de la zone migratrice est encore nette après quarante-huit heures. Au 1/50 000 quelques cellules présentent seules des lésions bien définies (tableau I).

TABLEAU I.

TEMPS d'action sur les cultures	VENIN DE <i>Vipera aspis</i> EN SOLUTION DE TYRODE		
	1/5 000	1 10 000	1/20 000
5 minutes .	Augm. des bat. myocard. Rupt. des ponts protoplasmiques.		
10 minutes .	Cellules rondes. Chapelets. Bat. rapides.		
15 minutes .	Bat. rapides. Cell. sphéroïdes.		
1 heure . .	Protoplasme granuleux.	Grande sensib. Colorants vit. Chondr. norm. Bat. normaux.	Nombr. granul. rouge neutre. Chondr. norm. Centre cell. normal.
2 heures . .	Rétraction sur le frag. orig.	Rupt. des ponts protopl. Chapelets. Mitochondries en boule.	<i>Id.</i>
3 heures . .	Débris cellulaires.	Ilots cell. Fine pel. prot. autour des noyaux. Bat.	Chondr. norm. Centre cellul. très net.
4 heures . .		<i>Id.</i>	Nombr. granul. Pénétr. rapide des colorants.
5 heures . .		Débris cellulaires.	Color. diffuse du cytopl. avec vert Janus et bleu de méthylène.
6 heures . .			Mitoch. granuliiformes.

b) *Modifications morphologiques.* — Une des premières modifications apparentes des cellules est leur évolution vers une forme globuleuse, puis sphérique semblable à celle de cellules en état de division mitotique. Des ponts protoplasmiques très fins les unissent entre elles, formant des chapelets cellulaires. Il est facile de voir au microscope qu'il n'y a pas de mitoses ; en revanche, le cytoplasme devient rapidement granuleux et présente de nombreuses enclaves lipidiques. Puis certains de ces ponts protoplasmiques se brisent, une grande partie des cellules formant la zone migratrice se replient sur le fragment initial, les autres forment des ilots cellulaires qui adhèrent au verre, ou flottent librement dans le milieu.

L'usage de *colorants vitaux* tels que le rouge neutre, le vert Janus et le bleu de méthylène médicinal en solution au 1/10 000 dans du Tyrode et substitués toutes les heures à la solution du venin nous a permis de suivre les modifications structurales.

On constate tout d'abord une notable augmentation du nombre des granules neutrophiles. Les mitochondries, normales au commencement, deviennent rondes, granuliformes. Le centre cellulaire bien visible, comme nous l'avons montré, grâce à une impureté du bleu médicinal qui le colore spécifiquement en pourpre [4], semble conserver son intégrité le plus longtemps. Après quinze, vingt-quatre ou quarante-huit heures de contact avec le venin suivant la concentration de ce dernier, les colorants vitaux ne mettent que le noyau en évidence ; ces cellules sont manifestement mortes.

c) *Modifications physico-chimiques.* — La faculté d'absorption des colorants basiques est rapide et massive. En effet, alors que le rouge neutre pénètre en deux à trois minutes dans les fibroblastes normaux et le bleu de méthylène en deux minutes (à la température ambiante de 18-20° C), on peut observer ces colorants après un temps de pénétration deux fois plus court dans les cellules soumises pendant deux heures à l'action du venin au 1/5 000. On peut en conclure avec raison qu'il y a augmentation de la perméabilité cellulaire (tableau II).

TABLEAU II. — **Augmentation de la perméabilité cellulaire.**

VENIN DILUÉ en solution de tyrode	ROUGE NEUTRE			BLEU DE MÉTHYLÈNE		
	2 heures	24 heures	48 heures	2 heures	24 heures	48 heures
1/3 000	1 à 2 min.	Noy.	0	1 min.	Noy.	Noy.
1/10 000 . . .	2 à 3 min.	1 à 2 min.	Noy.	2 min.	1 min.	Noy.
1/20 000 . . .	2 à 3 min.	2 à 3 min.	1 à 2 min.	2 min.	2 min.	1 min.
Témoins . . .	2 à 3 min.	2 à 3 min.	3 min.	2 min.	2 min.	2 min.

Par ailleurs, la recherche de la phosphatase alcaline mise en évidence par la méthode de Gomori modifiée nous renseigne [5] sur la distribution de cet enzyme dans des cellules exposées à l'action du venin de vipère au 1/10 000. Dans les fibroblastes normaux la phosphatase alcaline est principalement localisée dans le noyau et surtout dans la chromatine. On la trouve également, mais beaucoup plus diffuse, dans le cytoplasme (fig. 1). Après vingt-quatre heures de contact avec le venin on retrouve

les mêmes localisations nucléaires mais on peut, en outre, observer une fonte générale du protoplasme dont il ne reste que de très fins filaments (fig. 2). Ces filaments, qui sont les ponts protoplasmiques dont nous avons parlé plus haut, unissent les noyaux entre eux et sont pratiquement dépourvus de phosphatase alcaline. Après quarante-huit heures la destruction du protoplasme devient complète. Les noyaux cellulaires conservés et groupés en

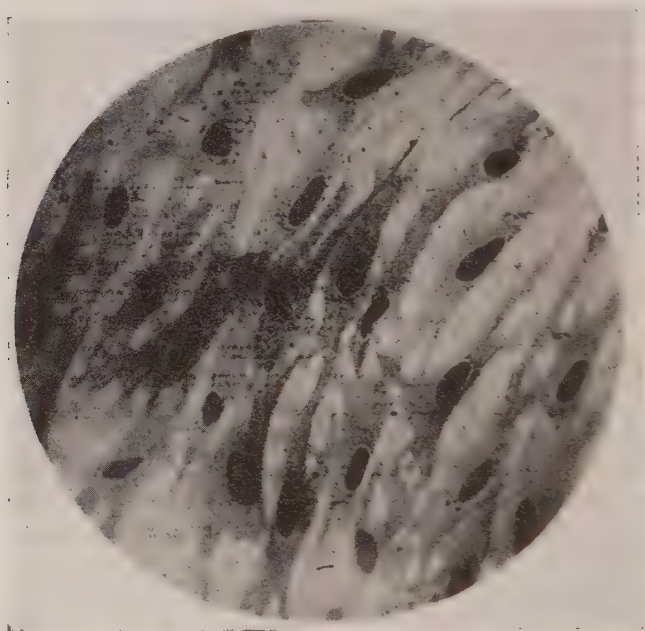


FIG. 1. — Réaction de la phosphatase alcaline dans des fibroblastes normaux. L'enzyme est surtout localisé dans les noyaux.

amas présentent encore la réaction enzymatique caractéristique dont l'intensité dans les grains de chromatine reste sensiblement la même (fig. 3).

DISCUSSION.

A la lumière des faits expérimentaux que nous venons d'exposer, il est permis, nous semble-t-il, d'émettre quelques hypothèses pour expliquer, d'une part la reprise de la croissance des fragments retransplantés en milieu normal, d'autre part le mécanisme d'action du venin de *Vipera aspis*.

Le venin agit sur les tissus de culture en trois temps : 1° par

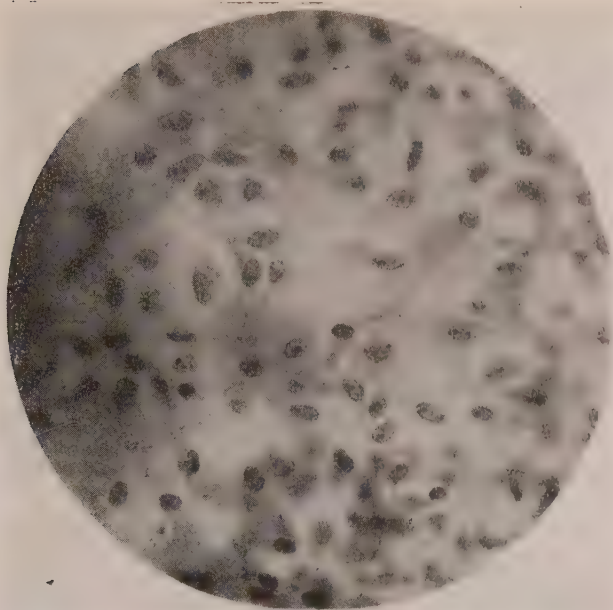


FIG. 2. — Même réaction après deux heures de contact avec le venin au 1/10 000. Noter la fonte du cytoplasme, les ponts protoplasmiques et certains noyaux isolés.

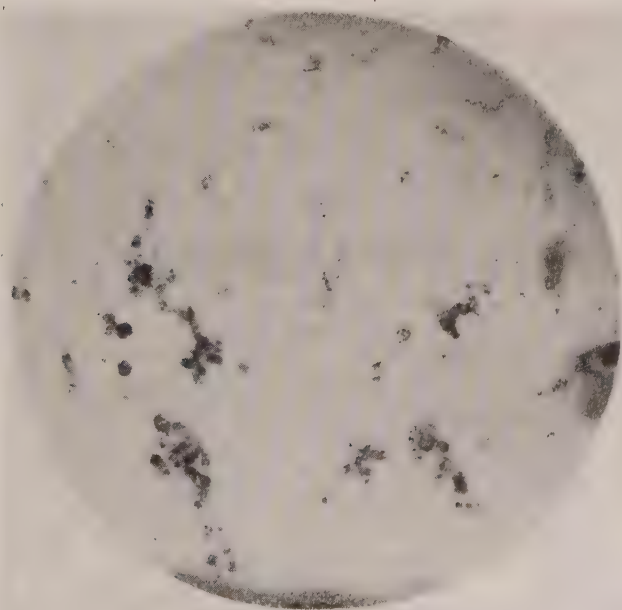


FIG. 3. — Même réaction après quarante-huit heures de contact avec le venin au 1/10 000. Disparition du cytoplasme; amas nucléaires. (Photos du Service photographique de l'Institut Pasteur. Gross. : $\times 420$.)

une excitation primaire qui se traduit par une augmentation des battements myocardiques et la forme sphéroïde des cellules les plus superficielles ; 2° par l'augmentation de la perméabilité cellulaire ; 3° par la destruction du cytoplasme, mais conservation des noyaux. Cette dernière particularité a déjà permis à P. Boquet et Y. Lehault [6] de démontrer la présence d'éléments nucléaires dans les corps bactériens.

En ce qui concerne la reprise de croissance de fragments préalablement exposés à l'action nocive du venin de vipère, les choses pourraient être envisagées de la façon suivante :

Successivement, et avec une rapidité plus ou moins grande suivant la concentration du venin, les cellules les plus superficielles sont atteintes ; la rupture des ponts protoplasmiques provoque la rétraction de la majorité des cellules de la zone migratrice sur le fragment initial qu'elles enrobent. La cytolyse se poursuit alors, aboutissant à une juxtaposition des noyaux qui forment une barrière s'opposant à une plus profonde pénétration du venin. Le lavage de ces fragments élimine le venin et une partie des débris cellulaires. Replacés en milieu normal, les cellules saines reprennent leur développement habituel et peuvent même, à la faveur des produits de dégradation qui sont restés à la surface de l'implant, présenter une activité légèrement supérieure à celle de cultures témoins. Tout semble donc se passer comme si l'activité protéolytique du venin de *Vipera aspis* se trouvait entravée par l'absence, sinon un trop faible agent de diffusion. Cette conception paraît logique si l'on considère le très grand pouvoir lethal exercé par une toxine staphylococcique ou le venin de cobra à des concentrations identiques.

L'action destructrice du venin de vipère à l'égard du protoplasme cellulaire est plus difficile à expliquer. En raison de l'extrême complexité des enzymes qui sont mis en jeu, on ne peut formuler des hypothèses que sous une certaine réserve. Toutefois, étant donné l'augmentation de la perméabilité cellulaire, nous avons pensé que son influence s'exerçait d'abord sur la membrane protoplasmique et tout particulièrement sur les ions calcium. Ceci expliquerait, dans une certaine mesure, la rupture des liens protoplasmiques. Un second facteur, comme l'hyaluronidase, pourrait favoriser ensuite une plus large pénétration du venin dans la cellule où les enzymes protéolytiques détruiraient le protoplasme. Des expériences faites dans ce sens avec des milieux dépourvus de calcium et une hyaluronidase du commerce (2) ne nous ont donné aucun résultat précis.

Un autre mécanisme peut être mis en avant. Danielli [7] constate que parmi les nombreux agents responsables de la lyse cellu-

(2) Lyophilized Hydase. Wyeth Inc. Philadelphie, U. S.A.

laire, la plupart ne peuvent traverser la membrane protoplasmique sans exercer d'abord leur action destructrice sur celle-ci. La *lécithinase*, qui convertit la lécithine en lysocithine (elle-même très lytique), serait un de ces puissants agents attaquant spécifiquement le complexe lipido-protéique de la surface cellulaire. Or, la lécithinase est un des très nombreux enzymes du venin de *Vipera aspis* qui comporte aussi des protéases et une l-ophi-amino-acide-oxydase décrite par Zeller [8]. Ce dernier enzyme aurait la propriété de résister à la neutralisation du venin par l'immun-sérum spécifique. On peut donc supposer que la lécithinase favorise d'abord l'introduction du venin dans la cellule où les constituants protéiques se trouvent attaqués et, dans un stade ultime, complètement dégradés. Toutefois, le mécanisme intime de cette action échappe encore aux investigations présentes.

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS.

1° A l'inverse d'une toxine staphylococcique ou du venin de cobra, le venin de *Vipera aspis* ne tue pas des fragments de rate de cobaye ou de myocarde embryonnaire de poulet cultivés en sa présence.

2° L'action du venin ne s'exerce pas indirectement en modifiant la valeur nutritive du milieu, mais directement sur la cellule elle-même.

3° Le venin de vipère agit en trois temps : a) excitation ; augmentation des battements du myocarde et gélification du protoplasme cellulaire ; b) augmentation de la perméabilité cellulaire ; c) lyse du cytoplasme.

4° Les résultats expérimentaux obtenus suggèrent une action toxique très localisée du venin de *Vipera aspis*. Les symptômes généraux observés sur les animaux à la suite de l'injection du poison pourraient être attribués à une dispersion de celui-ci dans l'organisme par l'intermédiaire des vaisseaux lymphatiques et sanguins.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] E. LASFARGUES et A. DELAUNAY. Ces *Annales*, 1946, **72**, 38.
- [2] C. LEVADITI et S. MUTERMILCH. *C. R. Soc. Biol.*, 1913, **74**, 1303.
- [3] E. LASFARGUES et J. DI FINE-LASFARGUES. *C. R. Soc. Biol.*, 1951, **145**, 683.
- [4] E. LASFARGUES et J. DI FINE. *Anat. Rec.*, 1950, **106**, 29.
- [5] E. LASFARGUES et J. DI FINE-LASFARGUES. *J. Cell. a. Comp. Physiol.*, 1951, **37**, 175.
- [6] P. BOQUET et Y. LEHOULT. Ces *Annales*, 1948, **74**, 339.
- [7] J. F. DANIELLI. *Cytology a. Cell. Physiology*. G. Bourne, Oxford, 1942, p. 68.
- [8] E. A. ZELLER. *Advances in Enzymology*, 1948, **8**, 459.

OBSERVATIONS PRÉLIMINAIRES SUR L'HÉMAGGLUTINATION, L'HÉMOLYSE ET LA CONGLUTINATION « PASSIVES » *

par OTTO BIER.

(Institut Pasteur. Service de Chimie microbienne.)

Sous les dénominations d'hémagglutination, d'hémolyse et de conglutination « passives », nous désignons des réactions basées sur la fixation artificielle d'un antigène ou d'un haptène sur des érythrocytes.

Les observations présentées dans ce travail comportent des expériences sur l'hémagglutination et sur l'hémolyse passives (1) avec trois systèmes immunologiques différents, ainsi que la preuve de la possibilité de l'emploi de la réaction de conglutination, basée également sur le transfert passif d'un haptène (le polyside pneumococcique III) sur des globules rouges.

Le phénomène de conglutination, bien caractérisé et décrit déjà il y a vingt-cinq ans par Bordet et Gengou, a récemment attiré de nouveau l'attention des immunologistes [2].

Il s'agit, en effet, d'une réaction très spécifique, dont les applications ont été mises en lumière par Streng [3, 4], soit directement pour révéler des quantités d'anticorps insuffisantes pour provoquer l'agglutination, soit indirectement dans un test en tout semblable à la réaction de Bordet et Gengou, le système hémolytique (globules + ambocepteur + complément hémolytique) étant remplacé par le système conglutinant, constitué par des globules additionnés d'ambocepteur, conglutinine (sérum de bœuf inactivé) et complément non hémolytique (sérum frais de cheval).

Les travaux de Wiener [5] sur la mise en évidence des anticorps incomplets Rh en milieu protéique ont peut-être aussi con-

* Société Française de Microbiologie, séance du 5 juillet 1951. Note présentée par P. GRABAR.

(1) MUNIZ [4] a proposé la dénomination d'« hémolyse conditionnée » pour la réaction observée avec les érythrocytes chargés d'un polyside microbien (*S. cruzi*) en présence de l'anticorps spécifique et de complément hémolytique. Nous croyons, cependant, que le mot « passif » a un sens immunologique déjà bien défini et peut remplacer avantageusement le qualificatif « conditionné ».

tribué à attirer l'attention des immunologistes sur le phénomène de conglutination. Il est évident, pourtant, que le procédé adopté par Wiener n'a aucun rapport avec la conglutination au sens de Bordet et Gengou, puisqu'il s'agit d'une réaction qui ne dépend pas de la présence de complément et qui présente, d'ailleurs, des caractéristiques tout à fait différentes du vrai phénomène de conglutination.

Nous employons donc le mot conglutination au sens classique de Bordet et nous avons essayé d'observer ce phénomène avec des globules chargés du polyoside pneumococcique III ou des antigènes O et Vi du bacille typhique, en présence des antisérums respectifs, de complément de cheval et de conglutinine.

MATÉRIEL ET MÉTHODES.

1° *Immunsérums et antigènes.* — Nous avons employé les antisérums et les antigènes suivants :

a) Sérum antipneumococcique type III (lapin), contenant 1,92 mg d'azote d'anticorps par centimètre cube, et polyoside pneumococcique III, lot 202, provenant du laboratoire du Dr. M. Heidelberger (Dept. of Biochemistry, College of Physicians and Surgeons, Columbia University, New York).

b) Sérums anti-typhiques O, lots H 685 et Vi, lot H 682 ; un antigène complet extrait de la souche O 901, d'après la technique de Boivin, et une fraction antigénique (PN), avec spécificité O et Vi, extraite de la souche Watson. Ces deux antigènes ont été préparés dans ce service, respectivement par les D^{rs} P. Corvazier et P. Oeding.

2° « *Sensibilisation* » des globules rouges (G. R.). — Du sang de mouton conservé à 0° C dans un volume égal de solution d'Alsever a été centrifugé pendant dix minutes à 2 500 t/m, le culot lavé deux fois et repris dans de l'eau physiologique de façon à donner une « suspension à 10 p. 100 ». Des portions de 5 cm³ de cette suspension furent additionnées à 5 cm³ de solutions d'antigènes à différentes concentrations et incubées à 37° C pendant deux heures, en les mélangeant intimement à des intervalles de trente minutes.

Les globules ainsi chargés d'antigène étaient ensuite lavés deux fois avec de l'eau physiologique et finalement amenés au volume de 5 cm³, afin de donner de nouveau une suspension à 10 p. 100. Cette suspension concentrée était maintenue à 0° C et diluée à 1/10 avant d'être utilisée dans les épreuves de conglutination, ou à 1/5, quand il s'agissait de réactions d'hémolyse.

3° *Absorption des réactifs avec des G. R.* — Tous les réactifs

employés, c'est-à-dire les immunsérums, le complément et le sérum de bœuf (conglutinine), ont été préalablement absorbés avec des G. R. de mouton.

Pour les antisérums, on a mélangé une dilution à 1/10 du sérum préalablement inactivé (55°, demi-heure) avec 1/10 de son volume de culot de G. R. Centrifugation après une heure de contact à 0° C.

En ce qui concerne le complément (C'), l'absorption a été faite seulement pour le C' de cobaye destiné aux réactions d'hémolyse, l'absorption n'étant pas nécessaire pour le C' de cheval, employé dans les réactions de conglutination.

Le sérum frais de cobaye, préalablement refroidi à 0° C, était mélangé, sans aucune dilution, avec 1/10 de son volume de culot de G. R. et séparé par centrifugation après un contact d'une heure à 0° C.

Pour le sérum de bœuf, l'absorption doit être accomplie très soigneusement puisqu'il faut enlever complètement l'ambocepteur anti-mouton et laisser uniquement la conglutinine. Le sérum de bœuf, inactivé (55°, demi-heure), était additionné de 1/10 de son volume de culot de G. R. et laissé en contact pendant une heure à 0° C. Cette absorption est répétée une deuxième fois, dans les mêmes conditions.

4° *Réaction de conglutination.* — 0,5 cm³ de différentes dilutions des antisérums sont additionnés de 0,5 cm³ d'un mélange de 2 parties en volume d'une suspension à 1 p. 100 de G. R. chargés de l'antigène spécifique, de 2 parties de sérum frais de cheval dilué à 1/5 et de 1 partie de sérum de bœuf inactivé et absorbé par les G. R., à une dilution convenable (1/2-1/4).

Les tubes sont incubés à 37° C pendant une heure, on les mélange chaque demi-heure. Après un séjour additionnel d'une heure à la température ambiante, on procède à la resuspension des G. R., en faisant tourner doucement le contenu de chaque tube. Cette agitation ne doit pas être trop violente, mais suffisante pour remettre les G. R. sédimentés des tubes témoins complètement en suspension. La lecture des résultats est faite quinze à trente minutes après la resuspension. On enregistre comme : + + + + la conglutination complète, avec un surnageant clair et un dépôt sous forme de disque compact ; + + +, quand le surnageant est légèrement trouble et que le sédiment se présente comme un disque un peu moins compact que le précédent ; + +, + et ±, quand il s'agit de sédiments de moins en moins compacts et partiels. Le signe O correspond à des G. R. non sédimentés, ce qui a lieu dans les tubes témoins.

5° Les détails des réactions d'héماغglutination et d'hémolyse sont décrits dans la partie expérimentale. Les résultats des réac-

tions d'hémolyse sont exprimés en p. 100, d'après des lectures colorimétriques des surnageants après incubation d'une heure à 37°.

RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX ET DISCUSSION.

A. *Système S III-anti S III.* — Le tableau I résume les résultats obtenus avec des globules traités, comme il a été précédemment indiqué, avec le polyside pneumococcique III, à la concentration de 1 000 µg par centimètre cube.

Trois séries parallèles ont été préparées avec les mêmes dilutions d'antisérum : la série (a) additionnée de 0,2 cm³ de globules à 1 p. 100 + 0,2 cm³ de C' de cheval 1/5 + 0,1 cm³ de sérum inactivé de bœuf absorbé par G. R. et dilué à 1/2 ; la série (b), additionnée de 0,2 cm³ de G. R. à 2 p. 100 + 0,2 cm³ de C' de cobaye 1/10 ; la série (c) identique à la série (a) mais additonnée de solution physiologique au lieu de sérum bovin.

TABLEAU I. — Réactions de congglutination, d'hémolyse et d'hémagglutination avec le sérum antipneumococcique, type III et des globules « sensibilisés » avec 1 000 µg du polyside spécifique.

0,5 CM ³ D'ANTISÉRUM dilué au	SÉRIE (a) [Conglutination]	SÉRIE (b) [hémolyse] p. 100	SÉRIE (c) [hémagglutination]
1/800.	++++	100	++++
1/1 000.	++++	100	++++
1/1 250.	++++	100	++++
1/1 666.	++++	100	++
1/2 000.	+++	100	0
1/2 500.	++	80	0
1/3 333.	++	40	0
1/5 000.	±	0	0
1/10 000.	0	0	0
Contrôle.	0	0	0

Les résultats montrent que : 1° les séries (a) et (b) donnent des indications presque superposables, c'est-à-dire que la sensibilité des réactions de congglutination et d'hémolyse est à peu près la même ; 2° dans la série (c), où l'hémagglutination s'est produite en absence de congglutinine, le titre était considérablement plus bas au moment où on a fait la lecture de la série (a) [congglutination], c'est-à-dire deux heures et demie après le mélange des réactifs.

De plus, il faut remarquer que les résultats de l'épreuve de congglutination étaient beaucoup plus nets que ceux de l'hémagglutination ; il y avait un dépôt sous forme de disque compact et de

désintégration difficile dans les 4 premiers tubes, tandis que les sédiments agglutinés de la série (c) présentaient les caractéristiques connues de la réaction de Middlebrook-Dubos, en se remettant en suspension assez stable, par une agitation, même légère.

B. Système typhique-antityphique. — Des résultats analogues ont été observés avec des globules « sensibilisés » aux antigènes typhiques (O 901 et P N), en présence des immunsérums correspondants (tableau II).

TABLEAU II. — Réactions de congglutination, d'hémolyse et d'héماغglutination avec les immusérums typhiques (O et Vi) et les globules « sensibilisés » avec 100 μ g des antigènes correspondants.

0,50 cm ³ antisérum dilué au	SÉRIE (a) (congglutination)		SÉRIE (b) (hémolyse p. 100)		SÉRIE (c) (héماغglutination)	
	Vi	O	Vi	O	Vi	O
	Antigène	Antigène	Antigène	Antigène	Antigène	Antigène
A. — Sérum O 901.						
1/25	0	++++	0	100	0	++++
1/50	0	++++	0	100	0	++++
1/100	0	++	0	100	0	++++
1/200	0	++	0	100	0	++
B. — Sérum Vi.						
1/25	+++	+++	100	100	++++	0 (1)
1/50	++	++	90	100	++++	0
1/100	++	++	60	100	++++	0
1/200	±	++	10	80	+++	0
Contrôles	0	0	0	0	0	0

(1) Tous les tubes montraient des réactions positives après vingt-quatre heures à la température ambiante.

Les observations résumées dans le tableau II indiquent que :

1° La sensibilisation des G. R. à l'antigène typhique O se met en évidence d'une manière particulièrement nette par la réaction d'hémolyse qui semble bien être le procédé de choix dans ce cas particulier. Il faut souligner, d'ailleurs, que la réaction de congglutination a été difficile à apprécier dans le cas des G. R. sensibilisés aux antigènes typhiques, par suite du fait que, malgré l'absorption répétée du sérum de bœuf avec des G. R., on n'est pas arrivé à obtenir des contrôles absolument irréprochables,

c'est-à-dire que dans les tubes témoins la sédimentation se produisait trop rapidement après la resuspension. Cette circonstance nous a obligé à réduire à dix minutes le temps de lecture après la resuspension, ce qui explique les résultats moins nets enregistrés avec la série (a) par rapport aux séries (b) et (c), surtout dans le cas de l'antisérum Vi.

2° La fixation de l'antigène P N (spécificité O + Vi) sur les G. R. a été beaucoup plus difficile que pour l'antigène O.

Dans des expériences où on a traité les G. R. par des concentrations variables des deux antigènes de (1 000 à 25 μ g), on a constaté que l'intensité de la sensibilisation pour l'antigène O était à peu près la même de 1 000 à 50 μ g, elle devenait un peu plus faible avec 25 μ g. Par contre, pour l'antigène Vi (préparation type Boivin extraite de la souche Vi₁ par le Dr P. Corvazier) il a fallu 500 μ g pour induire une hémolyse totale en présence de 0,5 cm³ d'antisérum homologue dilué à 1/10, les degrés d'hémolyse devenant de plus en plus faibles avec des quantités inférieures d'antigène. Dans les mêmes conditions, la sensibilisation avec 100 μ g d'antigène O produit une hémolyse totale jusqu'à la dilution 1/160 de l'antisérum homologue.

Cette difficulté de fixation des fractions antigéniques Vi essayées explique, à notre avis, l'absence de réaction des érythrocytes chargés de ces antigènes avec l'antisérum O, en discordance avec les résultats de l'épreuve du disque (vérifications faites par le Dr P. Corvazier), qui décèle des réactions positives (++) avec les deux antigènes (O et Vi).

Par contre, la fixation de l'antigène O sur les G. R. a été suffisante pour conditionner des réactions positives, aussi bien avec l'antisérum O qu'avec l'antisérum Vi, encore une fois en discordance avec l'épreuve du disque (++ Vi, — O). Cette discordance peut être facilement expliquée par le fait que l'antigène O possède l'aptitude de sensibiliser les G. R. à des concentrations extrêmement faibles.

Il est donc bien évident que la sensibilité des réactions « passives » (hémagglutination, conglutination, hémolyse) dépend de l'intensité de sensibilisation des G. R. et peut être plus faible ou plus élevée que celle de l'épreuve du disque.

En ce qui concerne la sensibilité comparative des trois procédés indirects étudiés dans ce travail, la conglutination s'est montrée aussi sensible que l'hémolyse (ou peut-être même un peu plus) pour le système S III-anti S III, tandis que pour le système typique l'hémolyse semble bien être le procédé le plus sensible.

Il faut cependant faire des études quantitatives plus rigoureuses, avec des G. R. sensibilisés par des quantités variables d'antigène, afin d'établir les sensibilités relatives des trois réactions.

CONCLUSIONS.

1° L'hémagglutination des G. R. chargés de polyoside pneumococcique (S III) ou des antigènes O et Vi du bacille typhique, en présence des antisérums correspondants, peut être transformée en une réaction de congglutination par l'addition de complément de cheval et de congglutinine, dans des proportions convenables.

2° La sensibilité comparative de l'hémolyse et de la congglutination passives a été supérieure à celle de l'hémagglutination avec le système S III-anti S III, tandis que pour le système typhique, l'hémolyse semble être le procédé de choix.

3° L'aptitude de fixation des antigènes sur les G. R. est le facteur déterminant de la sensibilité des réactions passives.

Nous remercions M. Pierre Grabar pour ses précieux conseils et pour l'accueil bienveillant qu'il nous a accordé dans son laboratoire. Nous remercions également le professeur M. Heidelberger pour l'envoi de l'immunsérum et du polyoside pneumococciques et les D^{rs} P. Corvazier et P. Oeding, pour les immunsérums et les antigènes typhiques.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] J. MUNIZ. *O. Hospital*, 1950, **35**, 199.
- [2] N. H. HOLE et R. R. A. COOMBS. *J. Hyg.*, 1947, **45**, 480.
- [3] O. STRENG. *Zentralbl. Bakt. Lorig.*, 1909, **50**, 47.
- [4] O. STRENG. *Beitr. path. Anat.*, 1911, **51**, 279.
- [5] A. S. WIENER. *J. Lab. Clin. Med.*, 1945, **30**, 662.

DES CORPUSCULES MÉTACHROMATIQUES DES CORYNEBACTÉRIES

par J. MACARY.

(Laboratoire de Microbiologie
de la Faculté de Médecine de Montpellier.
[Professeur L. CARRÈRE.]

Si les corpuscules dits « métachromatiques » des Corynebactéries sont connus depuis longtemps (P. Ernst, 1888 ; V. Babes, 1889) [1, 2] leur constitution n'est pas encore totalement élucidée ; quant au rôle qu'ils jouent dans le métabolisme cellulaire, il est toujours du domaine de l'hypothèse.

Toutes les méthodes de coloration utilisées en bactériologie pour les mettre en évidence sont basées sur leur propriété basophile et sur le phénomène dit de métachromasie qu'ils présentent et qui permet à Ernst de les individualiser.

Nous basant sur des travaux poursuivis par ailleurs sur des tissus animaux, nous nous étions assigné comme but d'essayer de détecter cytochimiquement les Phosphatases des bactéries en utilisant les méthodes de G. Gomori.

Des travaux antérieurs, et particulièrement ceux de J. Bray [3], ayant montré *in vitro* que les Corynebactéries possédaient des Phosphatases, notre choix s'était donc porté d'emblée sur ces microorganismes.

Malheureusement, dès les premiers essais, nous obtenions les mêmes résultats sur les lames témoins qui n'auraient normalement pas dû se colorer.

Le principe de la méthode est simple : il consiste à mettre la coupe, ou le frottis dans notre cas, en présence d'un substrat : le glycérophosphate de calcium qui est hydrolysé par la phosphatase en glycérol et phosphate tricalcique qui précipite *in situ*. Celui-ci, invisible, étant à son tour détecté par immersion dans un sel soluble de cobalt avec lequel, par double décomposition, il forme du phosphate de cobalt insoluble légèrement rosé qu'on « extériorise » avec une solution de sulfure d'ammonium qui donne du sulfure de cobalt. En dernière analyse, les endroits contenant des Phosphatases se révèlent par une coloration noire de sulfure de Co. Le fond de la préparation étant contrasté par un colorant *ad libitum* tranchant sur le noir.

Or, en opérant sur des lames témoins incubées dans la première solution privée de substrat, nous obtenions en fin de compte des colorations identiques à celles de lames incubées en présence de substrat, et il se révéla que les granulations colorées en noir à l'intérieur des bactéries étaient les corpuscules métachromatiques (C. M.).

En opérant par élimination successive, nous fûmes amené à constater que ces C. M. fixaient électivement les sels de Co, ce qui s'extériorisait secondairement par un précipité noir de S Co.

Nous avons évidemment opéré sur des lames témoins sans Co, mais avec du sulfure d'ammonium seul et les résultats furent négatifs.

Nous avons donc découvert une méthode simple et indiscutable permettant de détecter les C. M. Après quelques tâtonnements, la méthode que nous proposons est la suivante :

MÉTHODE. — 1° Fixation du frottis mince par l'alcool, l'acétone ou à la rigueur par la chaleur.

2° Immersion de la lame pendant cinq minutes dans une solution aqueuse à 2 p. 100 d'un sel soluble de cobalt (nitrate, acétate...). Cette solution se conserve indéfiniment.

3° Lavage soigneux à l'eau pour éliminer l'excès de cobalt qui précipiterait dans le temps suivant.

4° Immersion dans une solution aqueuse à 1 p. 100 de sulfure d'ammonium, cinq minutes. Cette solution ne se conserve que peu de temps, elle perd peu à peu de son titre et doit être préparée extemporanément à partir d'une solution stock concentrée.

5° Lavage à l'eau ordinaire.

6° Coloration du corps bactérien par un colorant tranchant sur le noir, au choix : éosine, 1 p. 100, une minute ; fuchsin acide, 1/10, cinq secondes, ou mieux vésuvine, 1 p. 1 000, une minute.

RÉSULTATS. — Les images obtenues sont très démonstratives (photo), les C. M. se présentent sous la forme bien connue de sphérules intensément noirs et réfringents en faisant varier la mise au point. Ces granules sont le plus souvent polaires, parfois équatoriaux, mais dans ce cas ils ne sont jamais aussi volumineux que ceux des extrémités qui débordent presque constamment le corps cellulaire.

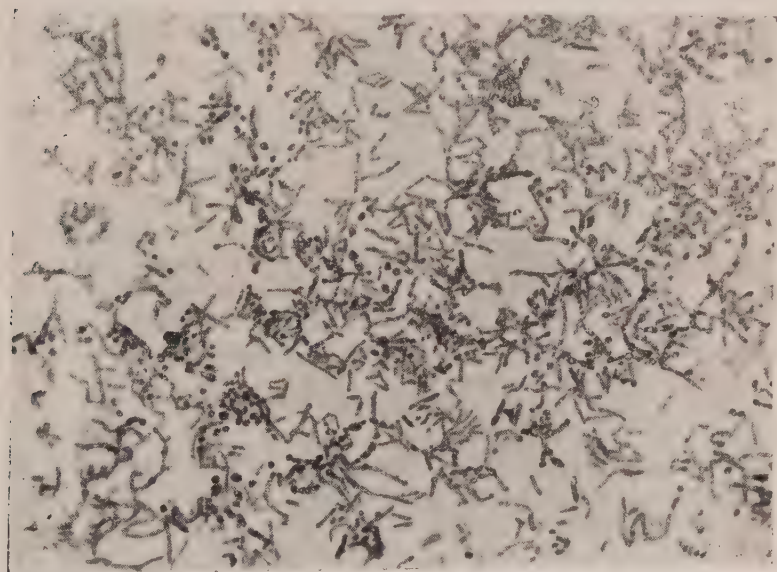
Leur nombre, à l'intérieur de la bactérie, est variable de 2 à 4 en général, il est parfois possible d'en compter jusqu'à 6 dans la même cellule.

Il est curieux de constater que dans les vieilles cultures les C. M. peuvent se présenter non plus en sphérules, mais en bâtonnets occupant soit un pôle, soit le centre même de la cellule,

parfois même les C. M. sont libres, la bactérie qui les renfermait ayant disparu.

VALEUR ET SIGNIFICATION DE LA MÉTHODE. — Cette nouvelle technique de coloration ne s'appuie ni sur la propriété métachromatique, ni sur la propriété basophile des C. M. Il nous a semblé intéressant d'essayer de l'interpréter aux lueurs récentes de la cytochimie bactérienne contemporaine.

I. *S'agit-il de coloration des C. M. ?* — Les travaux récents de Robinow d'une part, de Boivin, Tulasne et Vendrely d'autre part,



ayant mis en évidence les acides nucléiques bactériens, nous nous sommes demandé si ce n'était pas l'un ou l'autre de ces acides qui fixait si intensément le cobalt. De nombreux arguments nous permettent de répondre par la négative.

1° *Argument chimique.* — J. M. Wiame [4], puis G. Schmidt, L. Hecht et Tannhauser [5] ont pu extraire la substance métachromatique de la levure identique chimiquement à celle des Corynebactéries. Ils ont identifié cette substance à des « Phosphates » que leur propriété de basophilie identifie au C. M. et qui s'opposent aux acides ribonucléiques qui sont, eux, orthochromatiques.

2° *Argument cytologique.* — Si l'on opère sur des souches de Corynebactéries dépourvues de C. M., la coloration de Robinow

permet de déceler un ou plusieurs noyaux, alors que la coloration au S Co est toujours négative.

Si, d'autre part, on examine *in vivo* au microscope à contraste de phase des Corynebactéries pourvues de C. M., il est aisé de voir les granules très réfringents en général polaires ou parfois centraux alors que l'examen dans les mêmes conditions de souches dépourvues de C. M. ne révèle qu'un corps microbien optiquement vide.

3° *Argument cultural évolutif.* — En partant d'une souche à l'origine dépourvue de C. M. il nous a été possible de voir apparaître ceux-ci par repiquages fréquents sur milieux riches en glucose et phosphates. Parallèlement les colorations au S Co apparaissaient ainsi que les colorations classiques d'Ernst Babes ou de Loeffler. Mais, dans tous les cas, la méthode de Robinow permettait de déceler l'acide désoxyribonucléique cellulaire.

Il n'y a donc aucun rapport entre les acides nucléiques bactériens et le composé fixant le cobalt. Ceci confirme les vues de Boivin et coll.

II. *La fixation élective des sels bivalents de cobalt par les C. M.* — Nous basant sur les propriétés chimiques analogues d'un métal voisin du cobalt, le fer, nous avons essayé d'obtenir la même coloration en remplaçant les solutions de Co par des solutions de sels ferreux solubles. Les résultats sont en tout point identiques. Il est à remarquer que seuls les sels de fer bivalents donnent des résultats, les sels ferriques ne donnent rien. Les C. M. fixent donc électivement les sels bivalents de Co et de Fe ; il est en effet possible, par un examen du frottis imprégné de Co, de déceler directement et au microscope ordinaire le « Phosphate » de cobalt colorant en rose les C. M. ; les sels de fer peu colorés sont invisibles.

L'interprétation de cette fixation est difficile. Les chimistes ne s'entendent pas sur la composition exacte des C. M. : J. M. Wiame en fait des pyrophosphates, G. Schmidt et coll. en font des métaphosphates, mais tous sont d'accord pour reconnaître à leurs composés une indépendance totale d'avec les acides nucléiques et ceci en s'appuyant sur des techniques physico-chimiques.

Il est malheureusement impossible, par des méthodes cytochimiques colorées, de séparer les ortho- des méta- et des pyrophosphates. Nous avons cependant essayé sans succès l'identification par le Cl_2Ba chlorhydrique ; l'action du NO_3Ag (solution à 5 p. 100, puis lavage à l'eau distillée) nous a permis de constater sa réduction en fin précipité métallique d'argent par les C. M.

Ces essais ne permettent donc pas de conclure, mais ont du

moins l'avantage de mettre en évidence les propriétés réductrices des C. M. dues sans doute à des phénomènes métaboliques oxydo-réducteurs (enzymatiques).

Quoi qu'il en soit, cette fixation des sels bivalents de Co et de Fe par le C. M. semble prouver qu'il s'agit d'un « Phosphate », sans préjuger de sa nature exacte, l'ion PO_4 étant le seul ion métabolisé par la bactérie qui donne des sels insolubles de cobalt et de fer.

III. *La propriété dite métachromatique des C. M.* — Ceci nous amène à discuter la valeur histochimique de la propriété de métachromasie que présente la Métachromatine (volutine de A. Mayer) des Protistes en général.

Se basant sur de remarquables travaux, L. Lison [6] écrivait en 1936 que les éléments chromotropes étaient constitués par un ester sulfurique de polyose. Ceci n'est donc pas en accord avec les résultats des chimistes précédemment cités [4, 5].

En effet, ou bien la volutine ne serait pas chromotrope comme on le prétend habituellement, et il ne s'agirait donc que de pseudométachromasie ;

Ou bien le phénomène de virage des colorants n'est pas spécifique d'esters sulfuriques de P. M. élevé comme le prétend Lison.

Le premier point ne semble pourtant pas discutable ; tous les tests de métachromasie sont positifs : indépendance du pH, de la température, le critère histochimique de Lison est positif aussi ; les colorations au bleu de toluidine à 0,5 p. 100 suivies d'un montage au sirop d'Apathy révèlent après quelques heures des C. M. violet pourpre caractéristiques des éléments chromotropes, et non bleus, s'il s'était agi d'éléments orthochromatiques.

Donc, seul le deuxième point semble en défaut puisqu'il s'agit non d'esters sulfuriques, mais de méta- ou de pyrophosphates, comme l'ont montré Wiame et Schmidt.

Il semble donc que le « virage métachromatique » ne soit pas, comme le soutient Lison, une véritable réaction chimique spécifique, apanage exclusif des esters sulfuriques de P. M. élevé, mais plutôt, comme l'admettent Bank et Bungenberg de Jong (1939), une indication de charges électronégatives libres nécessaires pour l'électro-adsorption et que Van Herwenden attribuait déjà avec raison au phosphore.

Intérêts de la technique au S Co. — La méthode de coloration des C. M. que nous proposons présente donc un double intérêt.

1° Intérêt pratique indéniable car elle se recommande par sa facilité (il est en effet inutile de chauffer comme dans le procédé d'Ernst Neisser) et la beauté des images obtenues : les C. M. sont d'un noir d'encre et tranchent nettement sur le corps pâle

de la bactérie beaucoup plus nettement que le bleu, le rouge ou le violet, obtenus par les autres méthodes.

2° Un intérêt théorique, en apportant une confirmation cytochimique à la constitution « phosphorique » des C. M. des Corynebactéries, mais en laissant cependant aux chimistes le soin d'éclaircir complètement la question.

CONCLUSIONS ET SOMMAIRE. — Au cours d'essai de localisation des phosphatases à l'intérieur de Corynebactéries, nous fûmes amené à déceler la fixation élective des sels bivalents de Co et de Fe par les C. M. et à mettre au point une technique de coloration par les sulfures de fer et de cobalt. Cette méthode, si elle n'apporte qu'un argument d'appoint à la nature « phosphatique » des C. M., se recommande au biologiste par sa simplicité et la netteté des images obtenues.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] P. ERNST. *Zeitschr. Hyg. u. Infektionskr.*, 1888, **4**, 25 ; *idem*, 1889, **5**, 428 ; *Zentralbl. Bakt.*, II, 1902, **8**, 1, 34, 65, 97.
- [2] V. BABES. *Zeitschr. Hyg. u. Infektionskr.*, 1889, **5**, 173 ; *idem*, 1895, **20**, 412.
- [3] J. BRAY. *J. Path. a. Bact.*, 1944, **56**, 497-506.
- [4] J. M. WIAME. *C. R. Soc. Biol.*, 1946, **140**, 897 ; *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1946, **28**, 552 ; *Bioch. biophys. Acta*, 1947, **1**, 234-55.
- [5] G. SCHMIDT, L. HECHT et TANNHAUSER. Formation enzymatique et accumulative de grande quantité de métaphosphate dans la levure de boulangerie.
- [6] L. LISON. *Histochimie animale*. Gauthier-Villars, Paris, 1936.

SOCIÉTÉ FRANÇAISE DE MICROBIOLOGIE

(Institut Pasteur, 25, rue du Docteur-Roux, Paris, 15^e.)

Séance du 4 Octobre 1951.

Présidence de M. PRÉVOT.

PRÉSENTATION D'OUVRAGE

M. C. LEVADITI : J'ai l'honneur de présenter à la Société Française de Microbiologie mon quatrième ouvrage sur les antibiotiques [*Pénicilline* (1), *Streptomycine* (2), *Antibiotiques d'origine fongique, bactérienne ou végétale* (3)], consacré au *Chloramphénicol* [*Chloromycétine* ou *Tifomycine* (4)].

Dès la découverte de ces médications particulièrement efficaces, j'ai attiré l'attention du monde médical français sur leur importance, tant du point de vue théorique que pratique. J'avais prédit, voilà déjà longtemps, que de nouvelles acquisitions du même genre ne tarderaient pas à nous surprendre, étant donné la progression vertigineuse de la recherche scientifique dans ce domaine. En plusieurs occasions, cette prévision s'est vue confirmée de façon éclatante.

Or, voici à peine quatre ans, des chercheurs perspicaces ont découvert aux Etats-Unis, apparemment par hasard, deux nouveaux antibiotiques d'origine fongique, l'*Auréomycine* et le *Chloramphénicol*. Comparés à d'autres composés similaires, ces deux agents thérapeutiques se singularisent par un potentiel curatif d'une ampleur inusitée jusqu'ici, non seulement dans les infections provoquées par des bactéries et des spirochètes pathogènes, mais encore dans des processus morbides dus aux *Rickettsia* des typhus exanthématiques, et aussi à quelques rares représentants du groupe des ultravirus, groupe qui s'était révélé inattaquable par les sécrétions mycéliennes déjà connues.

Désireux de consacrer une monographie à l'un de ces antibiotiques, il m'a donc fallu choisir entre le *Chloramphénicol* et l'*Auréomycine*.

(1) C. LEVADITI, *La pénicilline et ses applications thérapeutiques*, 1945, Paris, Masson, éditeur.

(2) C. LEVADITI, *La streptomycine et ses applications thérapeutiques*, 1948, Paris, Presses Documentaires.

(3) C. LEVADITI, *Antibiotiques (autres que la pénicilline et la streptomycine)*, 1950, Paris, Baillière et Fils, éditeurs.

(4) C. LEVADITI, *Le Chloramphénicol (chloromycétine) et ses applications thérapeutiques*, 1951, Paris, J.-B. Baillière et fils, éditeurs.

Or, si mon choix s'est porté sur le premier, c'est que (fait de la plus haute valeur scientifique), des chimistes avertis ont réussi à le préparer par voie exclusivement synthétique, à l'obtenir sous forme cristallisée et à éviter, de la sorte, la servitude des méthodes purement biologiques, à la fois compliquées et, souvent, capricieuses. La synthèse du Chloramphénicol a donc abandonné les installations coûteuses utilisant les cultures des hyphomycètes, pour envahir les laboratoires de chimie organique, au grand avantage de la purification du produit et de l'invariabilité, d'une exactitude pour ainsi dire mathématique, de l'activité thérapeutique.

L'ouvrage que je vous présente comporte une riche partie bibliographique, à laquelle se rattache un *addendum* de recherches personnelles, effectuées en collaboration avec M. Vaisman, M^{me} Henry-Eveno, M^{le} Veillet et M. Th. Sandor. Il m'apparaît aussi complet que possible et me semble atteindre le principal but poursuivi : mettre le médecin que les maladies infectieuses intéressent au courant des toutes dernières applications thérapeutiques du Chloramphénicol.

Son titre est : « *Le Chloramphénicol (Chloromycétine ou Tifomycine) et ses applications thérapeutiques* » (5). La répartition de ses dix chapitres correspond à celle des principaux problèmes posés et résolus, soit les caractères biologiques du *Streptomyces venezuelae*, la constitution chimique, la synthèse et la cristallisation de l'élément actif, le spectre de l'inhibition bactérienne, le mécanisme d'action de cet élément — comparé à celui qui préside aux effets des bactériophages —, la tolérance, la résorption et l'élimination, l'expérimentation et, pour finir, le traitement des nombreux processus infectieux humains (entre autres les rickettsioses, les spirilloses et les fièvres typhoïde et paratyphoïdes, domaine où la médecine française s'est particulièrement illustrée).

Un problème, et non des moins importants, se pose au sujet de l'inefficience presque totale des antibiotiques connus (et de ceux actuellement à l'étude, telle la Terramycine) à l'égard des divers ultravirus, entre autres ceux du vaccin jennérien, de la rage, de la poliomyélite, de la fièvre jaune, de l'influenza, — inefficience contrastant avec le pouvoir inhibiteur intense de ces mêmes sécrétions mycéliennes vis-à-vis des bactéries, des *Rickettsia*, des spirilles et spirochètes, et aussi du groupe para-rickettsien représenté par les agents étiologiques de la psittacose, de l'ornithose, de la maladie de Nicolas-Favre et des pneumonies atypiques. Pour quelle raison ? C'est là une question à laquelle on ne saurait répondre actuellement qu'en formulant des hypothèses. En voici deux qui se présentent à l'esprit :

Première hypothèse. — Les ultravirus, on le sait, sont totalement dissemblables des bactériacées, des spirilles et spirochètes et des *Rickettsia* du point de vue du mécanisme présidant à leur pullulation, de leur strict attachement à la vie même des éléments cellulaires réceptifs qui les hébergent, de l'impossibilité de leur culture en milieux nutritifs inertes. Si les antibiotiques ne sont pas virulicides, dans le sens strict du terme, tout en étant fortement bactériostatiques et microbicides, c'est qu'ils sont incapables d'exercer leurs effets inhibi-

(5) 1951, Paris Baillière et Fils, éditeurs.

teurs là où la synthèse des ultravirus s'effectue, à savoir dans l'intimité même de la cellule-hôte. L'action antibiotique des sécrétions fongiques constitue donc une barrière de plus entre les microorganismes cultivables et les virus.

D'après la *seconde hypothèse*, seule une technique défectueuse serait à incriminer. Il n'est, en effet, pour s'en rendre compte que de se pencher sur la manière de faire habituelle des chercheurs. On constate alors que les bactériologistes auxquels incombe la charge d'isoler des champignons de très nombreux échantillons de terre (6), par exemple, éprouvent les effets bactériostatiques de ces organismes à l'égard des germes Gram-positifs et négatifs (habituellement des pyogènes), retiennent les champignons actifs de ce point de vue, les étudient et *rejetent sans scrupule tous ceux qui se révèlent inopérants*. Parmi ces chercheurs, aucun ne songe à l'efficacité virulicide possible de ces éléments « rejetés ». Or, on peut présumer que, parmi ces derniers, il peut y avoir des variétés inhibitrices à l'égard des ultragermes filtrables. Signalons toutefois à ce sujet que, selon un renseignement récent, M. Waksman, auquel nous devons la Streptomycine, aurait isolé tout dernièrement un antibiotique doué d'une telle activité virulicide.

Il nous paraît urgent que ces deux hypothèses soient soumises à une vérification expérimentale précise.

COMMUNICATIONS

RECHERCHES

SUR LA POLLUTION DES VENINS DE SERPENT PAR LES ANAÉROBIES ET LEUR STÉRILISATION

par A.-R. PRÉVOT.

(Institut Pasteur. Service des Anaérobies.)

Dans les premiers temps de la sérothérapie antivenimeuse, la mortalité des chevaux destinés à la production de ces sérums était extraordinairement élevée. Vers l'époque 1922-1924, j'ai eu l'occasion de voir mourir plusieurs chevaux, et l'aspect clinique des lésions macroscopiques était parfois celui d'une gangrène œdémateuse surajoutée aux lésions propres du venin. Sur un cheval mort avec de tels signes, en 1923, un prélèvement fait juste après l'exitus m'avait montré qu'il s'agissait d'une infection polymicrobienne où dominait *Cl. œdematiens*. L'opinion régnante à cette époque était qu'il s'agissait de microbes d'origine intestinale et de fixation pré-agonique dans les lésions nécrotiques étendues causées par les venins.

(6) Il a fallu étudier plus de 1 000 échantillons de ce genre pour découvrir le *Streptomyces rimosus*, générateur de la Terramycine.

Cependant, l'emploi des anavenins fit baisser considérablement les désordres observés chez ces chevaux, ainsi que leur mortalité. Toutefois, les anavenins restaient difficiles à préparer et ne constituaient pas des antigènes parfaits. Aussi s'était-on adressé à plusieurs méthodes pour obtenir des antigènes à la fois peu ou pas toxiques et conservant toutes leurs fractions [1]. Malgré les nombreux essais, le résultat ne fut jamais parfait, et récemment encore, nous avons pu observer à Garches, deux chevaux antivenimeux mourant avec l'aspect d'un phlegmon gazeux hémolytique semblable à celui qui est causé par *W. perfringens*. Mais les prélèvements pratiqués trop tard n'ont pas pu le prouver.

Aussi avons-nous recherché dans les dilutions de venin qui avaient servi à inoculer ces chevaux, la présence éventuelle d'anaérobies. Il s'agissait de dilutions de venin de *Cerastes* ayant été chauffé trente minutes à 55°. Dans ces dilutions, nous avons isolé une souche pure de *W. perfringens* type A, très pathogène pour le cobaye et pour la souris. Il importait de savoir l'origine exacte de cet anaérobie.

Nous avons obtenu de notre collègue P. Boquet, que nous remercions très vivement, des échantillons de venins bruts et desséchés de *Cerastes*, de *Vipera aspis*, de *Cobra* et de *Bitis arietans*. De tous ces venins nous avons fait des solutions à 1 cg par centimètre cube et sur ces dilutions nous avons pratiqué à la fois des isolements et des numérations de germes.

Venin de Cerastes. — Par numération sur gélose profonde, nous obtenons 1 500 colonies par centimètre cube. La majorité de ces germes répondent à *W. perfringens*, les autres sont des cocci facultatifs (Staphylocoques et Streptocoques). La culture de *W. perfringens* obtenue à partir de cet isolement tue le cobaye de 350 g en vingt heures à la dose de 0,5 cm³ intramusculaire.

Venin de Vipera aspis. — Par numération sur gélose profonde nous obtenons 3 000 colonies au centimètre cube. Ici encore, il s'agit d'un mélange de différents cocci facultatifs avec *W. perfringens*. La souche isolée est moins pathogène que la précédente : le délai pour obtenir la mort du cobaye de 350 g est de quarante-huit heures pour 0,5 cm³.

Venin de Bitis arietans. — Ce venin est beaucoup moins riche en microbes que les précédents. Nous n'obtenons que 130 colonies au centimètre cube. Il n'y a pas de *W. perfringens*. Le seul anaérobie isolé est *Cl. butyricum*.

Venin de Cobra. — Cet échantillon se montre absolument stérile : il s'agit d'un échantillon très ancien (plus de quinze ans) où toutes les bactéries ont péri par vieillissement en mauvaise condition.

Stérilisation des antigènes venimeux. — Fort de ces données et nous référant à nos expériences antérieures au sujet de l'action des antibiotiques sur les anaérobies [2], nous avons cherché à stériliser les dilutions de venin à 1 cg par centimètre cube au moyen de la pénicilline.

A chacune des dilutions de ces quatre venins, nous avons ajouté des quantités décroissantes de pénicilline depuis 100 000 U jusqu'à 500 U.

Les résultats de ces expériences sont que 1 000 U de pénicilline stérilisent absolument ces dilutions après une heure de contact. Ces antigènes venimeux stérilisés par la pénicilline conservent leur pou-

voir toxique. Etant donnée la pluralité des facteurs antigéniques des venins, nous devons attendre le résultat de leur emploi systématique pour juger de la valeur de la méthode.

CONCLUSIONS. — 1° La teneur élevée des venins de serpents en anaérobies (*W. perfringens* en particulier) explique les surinfections locales, mortelles, des chevaux injectés avec les antigènes incomplètement stérilisés, certains venins renfermant en effet jusqu'à 3 000 germes au centigramme.

2° L'addition de 1 000 U de pénicilline aux dilutions de venin à 1 cg par centimètre cube les stérilisent absolument et permettra des immunisations ne se compliquant jamais d'infections locales.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] P. BOQUET. *Venins de serpents et antivenins*. 1 vol. Edit. méd. Flammarion, 1948.
- [2] A.-R. PRÉVOT. Ces *Annales*, 1946, **72**, 471 ; *Bull. Acad. Méd.*, 1946, **130**, 123 ; ces *Annales*, 1946, **72**, 840 ; *Bull. Acad. Méd.*, 1947, **131**, 78 ; *C. R. Soc. Biol.*, 1947, **141**, 264.

NOUVELLE MÉTHODE DE DÉTERMINATION DU POUVOIR NITRIFICATEUR D'UNE TERRE

par J. KAUFFMANN et G. BOQUEL.

(Office de la Recherche Scientifique Outre-Mer [Laboratoire
de Microbiologie des Sols].)

La détermination du pouvoir nitrificateur d'une terre a retenu l'attention de nombreux auteurs. Parmi ceux-ci, Waksman [1] dose les nitrates apparus dans un mélange déterminé de terre, de sulfate d'ammonium et de carbonate de calcium après un séjour d'un mois à l'étuve. Il définit le pouvoir nitrificateur de la terre étudiée par le rendement en nitrates trouvés.

Cette méthode donne des indications utiles sur le taux d'azote nitrifiable, mais elle ne renseigne pas sur la densité et l'activité comparée des nitrificateurs au sein du sol.

En 1931, Winogradsky [2] tente de résoudre ce problème en ensemençant avec des grains de terre une plaque de silico-gel additionnée d'un milieu salin, de carbonate de calcium et d'une source azotée. Celle-ci est un sel d'ammonium s'il s'agit de mettre en évidence des germes nitreux. En présence de cet azote ammoniacal, ces derniers prolifèrent et forment des colonies, mettant à nu le gel de silice. Chaque grain de terre possédant des germes nitreux apparaît donc entouré d'une zone translucide. En remplaçant le sel d'ammonium par un nitrite, on peut caractériser les germes nitriques par les colonies jaunâtres qu'ils donnent.

Cette méthode, bien que très séduisante, comporte quelques inconvénients. En effet, il est souvent difficile de déterminer la présence de colonies nitreuses et surtout nitriques sur la surface du gel de silice. Les taches jaunes autour des grains de terre sont souvent très petites et il est difficile, dans ces conditions, d'affirmer si l'on se trouve en présence de colonies nitriques, surtout si l'examen microscopique ne révèle que quelques germes difficiles à déterminer. Ces taches jaunâtres, d'ailleurs, peuvent provenir d'une diffusion dans le silico-gel des substances solubles contenues dans le grain de terre.

Les colonies de germes nitreux, bien que plus apparentes que les colonies de germes nitriques, sont parfois, de même, difficiles à déterminer. C'est le cas lorsque ces colonies ne forment qu'une très petite auréole transluide autour du grain de terre. Nous avons retrouvé ces auréoles sur plaque « nitrique ». Ceci peut s'expliquer par l'acidité de la terre (la terre utilisée est à pH acide). D'autre part, il existe tous les intermédiaires entre les petites et les grandes auréoles. On ne peut utiliser un réactif des nitrites pour déterminer la présence d'une colonie nitreuse en un point précis sur le silico-gel. En effet, les nitrites diffusent dans le gel et il suffit de la présence d'une seule colonie nitreuse sur la plaque pour que celle-ci devienne entièrement positive au réactif.

Afin de faciliter la détermination des colonies nitrificatrices, nous avons mis au point une nouvelle méthode qui n'est en fait qu'une modification de celle de Winogradsky. Les germes nitreux et nitriques sont caractérisés chimiquement à l'aide des réactifs des nitrites (réactifs de Griess) et des nitrates (réactif à la diphénylamine sulfurique).

On opère en milieu liquide. On emploie les milieux suivants :

1° Pour les ferments nitreux :

Milieu salin de Winogradsky	5 cm ³
CO ₃ Ca	1 g
SO ₄ (NH ₄) ₂	0,1 g
Eau distillée	100 cm ³

2° Pour les ferments nitriques :

Milieu salin de Winogradsky	5 cm ³
CO ₃ Ca	1 g
NO ₃ Na	0,01 g
Eau distillée	100 cm ³

Ces milieux sont répartis dans des tubes à hémolyse, à raison de 0,5 cm³ de milieu par tube. Chacun de ceux-ci est bouché au coton, stérilisé et ensemencé avec un grain de terre. Après un mois à l'étuve à 29° on caractérise les nitrites et les nitrates dans les différents tubes. Au cours de l'expérience, s'il s'est produit une forte évaporation des milieux de culture, on ajoute de l'eau distillée stérile dans les différents tubes.

Le pouvoir de nitrification de la terre est déterminé par le pourcentage de tubes dont le contenu (milieu pour les ferments nitreux) est positif au réactif de Griess ou à la diphénylamine sulfurique. En effet, il peut se produire au cours de l'expérience une oxydation totale des

nitrites en nitrates, par des germes nitriques pouvant coexister avec les germes nitreux, d'où l'utilité d'un contrôle avec le réactif à la diphénylamine dans les milieux se montrant négatifs au réactif de Griess (on a soin de comparer les résultats obtenus avec le témoin).

Le pouvoir de nitratisation de la terre est déterminé par le pourcentage de tubes dont le contenu (milieu pour les germes nitriques) est négatif au réactif de Griess et positif à la diphénylamine.

Nous avons étudié comparativement avec la méthode au silico-gel et la méthode des tubes, le pouvoir nitrificateur de trois échantillons de terre provenant de Côte d'Ivoire.

Les trois échantillons ont été prélevés au mois de juin 1951, respectivement dans une terre de forêt, dans une terre maintenue dénudée depuis un an, le troisième échantillon provenant d'une portion de cette parcelle dénudée, abandonnée à la végétation. Primitivement, ces deux parcelles étaient recouvertes par la forêt.

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant :

		MÉTHODE des plaques au silico-gel Pourcentage des grains positifs	MÉTHODE des tubes Pourcentage des grains positifs
Forêt.	Nitreux.	3	18
	Nitriques.	5	44
Terre dénudée.	Nitreux.	4	10
	Nitriques.	10	94
Terre dénudée puis abandonnée à la végétation.	Nitreux.	4	18
	Nitriques.	4	42

A noter que le pourcentage a été établi, pour la méthode au silico-gel, à partir de 100 grains de terre et à partir de 50 grains (soit 50 tubes à hémolyse) pour la méthode des tubes.

Nous avons été obligés d'établir d'une manière très empirique le pourcentage des grains de terre positifs par la méthode au silico-gel. Nous pouvons, par contre, présenter comme absolument certains les résultats obtenus par la méthode des tubes à hémolyse.

Nous pensons que cette méthode, qui nous a donné des résultats beaucoup plus sûrs que la méthode utilisant les plaques au silico-gel, semble devoir être retenue pour la détermination du pouvoir nitrificateur d'une terre.

BIBLIOGRAPHIE

[1] WAKSMAN. *Soil Sci.*, 1923, 55.

[2] WINOGRADSKY. *C. R. Acad. Sc.*, 1931, 192, 1000 ; *C. R. Acad. Agr.*, 1931, 17.

NOUVELLE MÉTHODE DE DOSAGE DE L'ANTICORPS ANAPHYLACTIQUE ET SON RAPPORT AVEC L'AZOTE DE L'ANTICORPS

par ZOLTAN OVARY et MONIQUE BRIOT.

(Note présentée par P. GRABAR.)

(*Service de Chimie Microbienne. Institut Pasteur, Paris.*)

Il a été démontré [1] que l'anaphylaxie passive cutanée directe locale du cobaye [2, 3, 4] peut être utilisée pour le titrage de l'anticorps anaphylactique du sérum de lapin ou de cobaye.

Dans le présent travail, nous voulons comparer les résultats obtenus par cette méthode biologique et ceux obtenus par la méthode de dosage de l'N du précipité lavé de Heidelberg [5, 6].

Des sérums de 4 lapins immunisés par l'ovalbumine cristallisée ont été employés. Leurs teneurs en anticorps déterminées par la méthode de Heidelberg (exprimées en μg d'N par millilitre) étaient : sérum n° 1 : 330 μg ; n° 2 : 610 ; n° 3 : 725 ; n° 4 : 875. Voici, brièvement résumée, la méthode biologique [1] que nous avons utilisée. Dans un premier essai les dilutions suivantes des sérums à titrer ont été préparées : 1/10, 1/100, 1/1 000, 1/10 000, 1/50 000. A des cobayes ayant un pelage abdominal blanc et pesant 230 à 250 g, on injecte dans la peau du ventre fraîchement épilée aux ciseaux, et d'une façon strictement intradermique, 0,10 ml des dilutions de sérum à titrer, chaque animal recevant deux injections, une de chaque côté de la ligne médiane. Six heures après, le mélange de 0,25 ml d'ovalbumine cristallisée à 4 p. 100 et 0,50 ml de bleu d'Evans (William R. Warner et Co) à 0,5 p. 100 dans l'eau distillée est injecté dans la veine selon la technique de Kabat et Mayer [6]. Dix minutes après l'injection intraveineuse les animaux sont sacrifiés et les résultats lus sur la face interne de la peau. Puisque tous les sérums ont donné les taches bleues caractéristiques à toutes les dilutions jusqu'à 1/10 000, et qu'aucun ne présentait une réaction positive à la dilution de 1/50 000, le titre correspondant de tous les sérums était compris entre ces deux chiffres, comme il a été établi dans un travail précédent [1]. Dans une seconde série d'expériences les dilutions suivantes ont été préparées : 1/12 000, 1/18 000, 1/24 000, 1/30 000, 1/36 000, 1/42 000. Quatre cobayes ont été employés pour chaque dilution. Puisque les taches bleues provoquées par les hautes dilutions ne sont pas très étendues, deux injections intradermiques sur chaque côté de la ligne médiane ont pu être pratiquées, la supérieure à 4 cm de distance de l'inférieure. L'injection déclenchante et la lecture des résultats ont été pratiquées comme il a été décrit plus haut. Les résultats sont résumés dans le tableau suivant :

Le signe + indique un résultat positif et le nombre des + l'intensité et l'étendue des taches. Le signe — indique l'absence de taches.

En utilisant les données quantitatives obtenues par la méthode de Heidelberg et en tenant compte du fait que les injections aux cobayes

	DILUTIONS					
	1/12 000	1/18 000	1/24 000	1/30 000	1/36 000	1/42 000
Sérum n° 1	+	—	—	—	—	—
Sérum n° 2	++	++	+	—	—	—
Sérum n° 3	++	++	+	—	—	—
Sérum n° 4	++	++	++	+	—	—

ont été faites avec 0,1 ml, nous pouvons calculer la quantité minima d'anticorps (exprimée en microgrammes d'N) nécessaire pour provoquer une réaction cutanée positive. Elle est, pour le sérum n° 1 de 0,00275, le n° 2 de 0,00265, le n° 3 de 0,003 et le n° 4 de 0,0029. Donc, environ 0,003 μg d'N d'anticorps sont encore suffisants pour provoquer une réaction visible.

La méthode de Heidelberger dépend de la sensibilité du « ring test » par lequel on met en évidence l'excès d'anticorps ou d'antigène dans le liquide surnageant le précipité spécifique. Ce test est sensible jusqu'à 3 μg d'N environ, tandis que la méthode biologique permet de doser des quantités bien moindres puisque sa sensibilité va jusqu'à 0,003 μg d'N environ.

La dilution du sérum susceptible de donner encore une tache visible exprime le titre du sérum par la méthode biologique [1] ; en tenant compte du fait que ce titre correspond à environ 0,003 μg d'N d'anticorps, on peut arriver ainsi, par une simple multiplication, à déterminer approximativement la teneur en anticorps du sérum exprimée en N. Par exemple, si la dilution 1/12 000 donne encore une tache visible et que les dilutions supérieures n'en donnent pas (cas du sérum n° 1), le titre par la méthode biologique est de 12 000. Le calcul donne 350 μg d'N d'anticorps, ce qui n'est pas très loin du chiffre trouvé par la méthode de Heidelberger (330 μg).

Malgré l'impossibilité d'obtenir une précision comparable à celle de la méthode de Heidelberger, la méthode biologique par sa rapidité, sa simplicité, son économie de sérum et surtout par sa sensibilité peut rendre des services appréciables.

Nous tenons à remercier tout particulièrement M. P. Grabar, chef de service à l'Institut Pasteur de Paris, qui nous a accueillis si aimablement dans son service et a mis à notre disposition tout le matériel nécessaire, et qui a bien voulu suivre ce travail et nous prodiguer ses conseils, ainsi que le professeur O. Bier, de Sao Paulo, dont les conseils et l'intérêt qu'il a porté à ce travail nous ont été d'un très grand secours, M^{me} M. Kaminski pour la préparation des sérums et M. Chaleil qui nous a secondé dans le travail sur les animaux.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] Z. OVARY. *Boll. Soc. Ital. Biol. sper.*, 1951, **27**, 308.
- [2] G. BIOZZI, G. MENÉ et Z. OVARY. *Lo Sperimentale*, 1949, **99**, 352.

- [3] G. BIOZZI, G. MENÉ et Z. OVARY. *Rev. Immunol.*, 1948, **12**, 320.
 [4] Z. OVARY. *Boll. Soc. Ital. Biol. sper.*, 1950, **26**, 330.
 [5] M. HEIDELBERGER et F. E. KENDALL. *J. exper. Med.*, 1935, **62**, 697.
 [6] E. A. KABAT et M. M. MAYER. *Exper. Immunochimistry*. Charles Thomas, Springfield, Illinois, 1948.

AVITAMINOSE ET STREPTOMYCINOTHÉRAPIE DANS LA TUBERCULOSE PULMONAIRE

par R. SARTORY, J. MEYER, A. LUTZ et S. FOUSSEREAU.

(Laboratoire de Microbiologie, Faculté de Pharmacie, Strasbourg.)

Depuis longtemps, de nombreux auteurs se sont attachés à étudier le retentissement possible des avitaminoses sur l'évolution de la tuberculose. Nous nous sommes proposé d'expérimenter trois corps du complexe B, à savoir les vitamines B₁, B₂ et PP, ceci surtout en rapport avec la streptomycinothérapie.

La carence vitaminique pendant la streptomycinothérapie peut s'expliquer par l'action nuisible sur les bactéries de la flore intestinale, jouant un rôle essentiel de synthèse *in vivo* des vitamines du complexe B.

Afin d'étudier les variations de ces taux vitaminiques dans la tuberculose pulmonaire et l'influence du traitement par la streptomycine sur ces corps, nous avons porté notre expérimentation sur :

1° Des sujets porteurs d'infiltrats tuberculeux de formes nodulaires et fibro-nodulaires.

2° Des tuberculeux porteurs de lésions cavitaires anciennes.

Les malades étaient du sexe féminin ; on les soumit à un même régime alimentaire comprenant quotidiennement 250 g de viande et

ÉLIMINATION	INFILTRATS	LÉSIONS	AU COURS DE LA STREPTOMYCINOTHÉRAPIE p. 100	
	tuberculeux	cavitaires	Avant	A la fin
	p. 10)	p. 100		
<i>Vitamine B₁.</i>				
Normale ou subnormale.	62,5	3,5	33,5	44,5
Moyennement déficitaire.	12,5	25	22	22
Très déficitaire	25	70	44,5	33,5
<i>Vitamine B₂.</i>				
> 200 µg	25	7	40	20
100 à 200 µg.	—	28,5	30	10
< 100 µg	75	64,5	30	70

500 cm³ de lait. Les dosages ont été opérés par voie physico-chimique et microbiologique. Ils ont porté sur les urines et le sang. Nous indiquerons dans un prochain mémoire les détails concernant prélèvements et dosages. Le tableau ci-joint résume nos résultats. Les cas y sont répartis, en ce qui concerne l'élimination, en trois groupes : dans le premier cette élimination est normale ou subnormale ; dans le deuxième, elle se trouve moyennement déficitaire ; enfin dans le troisième elle se montre nettement très déficitaire.

CONCLUSIONS. — Nous avons constaté au cours de notre expérimentation :

Une tendance plus ou moins accusée à l'hypovitaminose B₁, B₂ et PP.

Un parallélisme entre l'importance de cette hypovitaminose B₁ et B₂ et la gravité des lésions, comme l'avaient déjà souligné différents auteurs.

Quant à l'action de la streptomycine, elle paraît peu sensible dans le cas de l'aneurine et de la nicotinamide. Par contre, cet antibiotique semble posséder une influence très nette sur l'élimination de la riboflavine. Les taux de vitamine B₂ excrétés en fin de traitement sont considérablement abaissés dans la plupart des cas : c'est ainsi qu'avant le traitement, 30 p. 100 seulement des malades excrétaient moins de 100 µg par jour, alors qu'à la fin de celui-ci, le pourcentage passait à 70 p. 100.

Indépendamment de la thérapeutique spécifique, il pourrait, nous semble-t-il, être intéressant de fournir au bacillaire les substances oxydo-réductrices utiles pour lutter contre l'infection. De nombreux auteurs ont, en effet, remarqué que les malades possédant une réserve suffisamment riche en substances oxydo-réductrices sont ceux qui résistent le mieux à l'infection tuberculeuse.

Johanson et Sarles [1] ont souligné l'importance biologique des micro-organismes intestinaux capables de synthétiser les diverses vitamines. Ils ont aussi attiré l'attention sur l'influence néfaste que pourrait avoir un traitement aux antibiotiques trop prolongé. .

Ceci nous semble justifier l'intérêt de ces recherches qui soulignent le rôle possible d'une surcharge vitaminique alimentaire et même thérapeutique chez les malades très déficitaires.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] JOHANSON et SARLES. *Bact. Rev.*, 1949, **43**, 1.

INHIBITION DE LA MIGRATION LEUCOCYTAIRE *IN VITRO* PAR UN POLYOSIDE CAPSULAIRE DE *TORULOPSIS (CRYPTOCOCCUS) NEOFORMANS*

par E. DROUHET et G. SEGRETAINE.

(Institut Pasteur, Service de Mycologie et de Physiologie végétale.)

Dans une publication récente [1], nous avons montré que la virulence de *Torulopsis (Cryptococcus) neoformans* est en étroite relation avec l'épaisseur capsulaire, celle-ci étant liée à la quantité de polyoside dont la capsule est formée. L'étude de l'action de la phagocytose provoquée sur deux types de culture, *smooth* (à levures peu capsulées) et *muqueux* (à levures fortement capsulées) provenant de la même souche de *Torulopsis*, nous a montré que les levures peu capsulées sont englobées par les phagocytes, tandis que les levures fortement capsulées ne sont pas phagocytées.

Nous avons pensé qu'il serait intéressant d'étudier *in vitro*, sur la migration des phagocytes, l'action des levures et du polyoside capsulaire isolé.

Nous utilisons la méthode d'examen du tactisme leucocytaire découverte par Comandon [2] et utilisée depuis par Delaunay et ses collaborateurs [3]. Les polynucléaires du cobaye sont mis en présence :

- a) Du polyoside purifié de la substance capsulaire de *T. neoformans* ;
- b) De levures fortement capsulées provenant d'une souche de type M, sur milieu gélosé maltosé de Sabouraud ;
- c) De levures faiblement capsulées provenant d'une culture de type S.

Les suspensions en eau physiologique de ces deux types de levures contenant initialement 40 000 cellules au millimètre cube, sont utilisées soit non lavées, soit lavées trois fois à l'eau physiologique.

Les leucocytes proviennent de l'exsudat péritonéal inflammatoire provoqué par des injections intrapéritonéales au cobaye de bouillon peptoné stérile. La concentration en leucocytes est voisine de 8 000 cellules par millimètre cube. L'exsudat péritonéal et les suspensions de levures ou les solutions de polyoside à diverses dilutions sont mélangées à volumes égaux. On laisse incuber une heure à 39° et on observe sur lame l'action des leucocytes sur les grains d'amidon. Les caractères des levures et les résultats de ces expériences sont résumés dans les tableaux I et II :

Après incubation d'une heure à 39°, la migration leucocytaire recherchée sur les grains d'amidon n'est pas modifiée par les levures lavées, mais est inhibée par les levures non lavées ; dans ce dernier cas, les dilutions des suspensions initiales sont inhibitrices jusqu'aux taux de 1/5 pour les levures peu capsulées et 1/50 pour les levures fortement capsulées. Une inhibition remarquable de la migration leucocytaire est

TABLEAU I.

<i>Torulopsis neoformans</i>	ÉPAISSEUR de la capsule	POIDS de polyoside p. 100 de levure sèche	VIRULENCE POUR LA SOURIS	
			Taux de mortalité	Temps de survie des animaux en jours
Smooth 48	< 1 μ	4,6	14/15	24
Muqueux 51	10 μ	15,37	15/15	7

TABLEAU II.

	POLYOSIDE	<i>Torulopsis neoformans</i>			
		Smooth 48		Muqueux 51	
		non lavé	lavé	non lavé	lavé
Action sur le tactisme leucocytaire.	Inhibition. Dilution 0,25 p. 1 000	Inhibition. Dilution 1/5	Nulle.	Inhibition. Dilution 1/50	Nulle.
Phagocytose.		Faible		Nulle	

obtenue avec le polyoside capsulaire, même à la concentration de 0,25 mg par centimètre cube. Cette action du polyoside se produit rapidement dès le contact des leucocytes avec le polyoside. L'action inhibitrice constatée avec les levures non lavées peut s'expliquer par la présence de traces de polyoside libre à la surface des levures.

Dans le cas des *Torulopsis*, *in vitro* comme *in vivo*, les levures fortement capsulées ne sont pas phagocytées, tandis qu'on a une très légère phagocytose pour les levures faiblement capsulées. Récemment, divers auteurs [3, 4] ont montré que la phagocytose des bacilles tuberculeux par les leucocytes inhibe la migration leucocytaire. Cette inhibition serait due d'après Bloch à la présence d'une substance lipidique, d'après M^{lle} Choucroun, Delaunay et coll. à une fraction lipo-polyosidique. Dans notre cas l'action inhibitrice est due à un polyoside purifié qui est composé de xylose, de mannose et d'un acide uronique et titre moins de 0,3 p. 100 d'azote.

L'inhibition du tactisme leucocytaire *in vitro* par le polyoside de *T. neoformans* et le fait que ce polyoside peut être extrait des cellules en quantité d'autant plus grande que les levures sont plus capsulées et donc plus virulentes, nous font penser que, *in vivo*, ce constituant libéré par les cellules, est responsable de l'absence de réactions cellulaires et de la faible réaction sérologique constatées chez l'hôte parasité.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] E. DROUHET, G. SEGRETAINE et J.-P. AUBERT. Ces *Annales*. 1950, 79, 891.
 [2] J. COMANDON. Ces *Annales*, 1920, 34, 1.
 [3] N. CHOUCROUN, A. DELAUNAY, S. BAZIN et R. ROBINEAUX. Ces *Annales*, 1951, 80, 6.
 [4] H. BLOCH. *J. exp. Med.*, 1950, 94, 197.

QUARANTE SOUCHES DE *CANDIDA* ISOLÉES A SAIGON DE L'EXPECTORATION DE TUBERCULEUX

par E.-R. BRYGOO.

(Institut Pasteur de Saïgon.)

L'étude des champignons levuriformes de l'expectoration des tuberculeux a déjà donné lieu à de nombreuses recherches.

Langeron [1] a insisté sur les conditions étiologiques favorables fournies par la tuberculose aux champignons, ce dont témoignent, outre les affections à *Candida albicans*, d'autres mycoses et en particulier la sporotrichose. Y a-t-il vraiment préparation par la tuberculose d'un terrain particulier, favorable à l'établissement d'une mycose, ou bien ne s'agit-il pas de l'utilisation simultanée d'un organisme aussi propre d'emblée au développement des mycobactéries que des agents mycotiques ? Notre intention n'est pas de trancher cette question. La tendance actuelle est de considérer le *Candida* comme faisant partie d'une flore saprophyte avant tout au plus une valeur de témoin, d'indicateur de la résistance du milieu. Mais le pouvoir pathogène très net de *C. albicans* chez l'animal laisse planer un doute sur l'innocuité réelle des champignons levuriformes. D'où l'intérêt de procéder à un inventaire systématique de cette flore.

Le présent travail a pour but d'exposer les résultats obtenus en l'explorant dans un pays où, à notre connaissance, cette étude n'avait pas encore été faite.

Gohar [2] travaillant au Caire identifia *Candida* (*Syringospora*) *albicans* dans 8 expectorations sur 50 provenant de tuberculeux à bacilloscopie positive, mais cet auteur ne semble pas s'être attaché au diagnostic d'espèce et il a rangé sous le nom de *S. albicans* tous les champignons levuriformes du genre *Candida*.

Dietrichson [3], dans une importante étude ayant porté sur plus de 500 souches de champignons levuriformes isolés des expectorations en Norvège, trouve sur 30 souches d'expectorations de tuberculeux, 26 *C. albicans* (*albicans* + *triadis*), 1 *C. tropicalis*, 3 *C. pseudotropicalis*. Cet auteur signale que les souches de *C. albicans* sont plus nombreuses chez les tuberculeux. Ce travail ne donne malheureusement aucune indication sur la fréquence avec laquelle les *Candida* se rencontrent dans l'expectoration des tuberculeux.

Skinner [4], en 1947, dans une revue très documentée où sont analysés de nombreux travaux américains, donne des chiffres intéressants : si le pourcentage des expectorations de tuberculeux contenant des *Candida* varie de 8,5 p. 100 (Norris, 210 examens) à 75 p. 100 (Marett, 2 000 examens), c'est pour lui qu'il s'agit de différences de techniques portant sur la quantité du matériel ensemencé et le milieu de culture utilisé. Les auteurs ayant fait le diagnostic d'espèce donnent les chiffres suivants :

	P. 100 de <i>Candida</i>	P. 100 de <i>C. albicans</i>
Fisher et Arnold	28	13
Burt et Ketchum	42	36
Schwartz	20	17

(D'après Skinner.)

Matériel d'étude. — Nous avons, pour rechercher la présence de *Candida*, ensemencé systématiquement toutes les expectorations où l'examen direct montrait la présence de B. K. Une série de 102 expectorations (100 malades) adressée à l'Institut Pasteur de Saïgon en 1950-1951 a ainsi été étudiée. Il n'a été tenu aucun compte de la présence ou de l'absence de levures visibles à l'examen direct. Tout crachat contenant des B. K. était ensemencé (une anse épuisée sur deux tubes de gélose Langeron). Les tubes, laissés à la température du laboratoire (25° à 30°), étaient observés pendant quatre jours. Les 100 malades comprenaient 94 Vietnamiens, dont 68 hospitalisés, et 6 Européens, dont 1 hospitalisé.

Technique. — Lorsque l'examen des tubes ensemencés montrait la présence de colonies de champignons levuriformes, macroscopiquement semblables, l'une d'elle était repiquée sur milieu de Raulin et laissée dix jours dans ce milieu à la température du laboratoire. Un nouvel isolement était alors pratiqué et une colonie unique servait à l'identification. Le passage par le milieu de Raulin est indispensable pour éliminer les contaminations bactériennes fréquentes ; le double passage par le stade de la colonie unique est indispensable pour obtenir des souches pures.

L'identification est basée sur les principes établis par Langeron et Guerra [5] ; toutefois l'étude des fermentations a été faite par le procédé des tubes à cloche, et non selon la technique originale de Guerra.

Cette méthode nous a donné des résultats constants et de lecture facile (sauf pour l'auxanogramme de l'azote) et nous a permis dans la grande majorité des cas d'identifier sans hésitation la levure étudiée. Mais c'est une méthode longue puisque les recherches s'échelonnent sur trente à quarante jours.

Résultats. — *Fréquence des champignons levuriformes dans l'expectoration des tuberculeux.* — Dans l'expectoration de 38 sujets sur 100 se trouvait au moins une espèce de champignon levuriforme. Les résultats positifs ont été constatés chez 4 Européens sur 6, chez 34 Vietnamiens sur 94 ; parmi ceux-ci, 68 étaient hospitalisés avec 24 résultats positifs, et 26 faisaient partie de clientèles privées avec 10 résultats positifs. La comparaison de ces chiffres entre eux ne donnerait aucune indication valable au point de vue statistique. Ils

ne figurent ici que pour mieux situer l'origine des souches isolées.

Quinze fois (sur 38) il y avait moins de 5 colonies de champignons levuriformes sur les deux tubes de gélose ensemencés avec une anse de l'expectoration étudiée. Dans 7 cas il y avait de 5 à 10 colonies, dans 11 cas de 10 à 20 colonies et dans 5 cas plus de 20 colonies.

La méthode suivie ici pour la recherche des *Candida* dans l'expectoration n'est pas à l'abri des critiques. Il est certain, en particulier, que le fait de rechercher les *Candida* dans des crachats émis sans lavage de bouche préalable a permis pour certains une contamination par des levures de la cavité buccale. La stérilité des récipients recevant les crachats pouvait laisser à désirer, mais ce facteur ne joue cependant pas pour *C. albicans* qui n'a jamais été rencontré à l'état saprophyte. Par ailleurs, le temps écoulé entre l'émission et l'ensemencement des crachats (douze à vingt-quatre heures) a pu permettre la multiplication des levures ; nous n'avons cependant pas relevé un nombre important d'infestations massives, puisque c'est seulement dans 5 cas que les colonies étaient vraiment très nombreuses.

Malgré ces causes d'erreurs, le chiffre de 38 p. 100 d'expectorations positives peut être retenu ; il n'est pas éloigné des chiffres moyens trouvés par d'autres auteurs, et si certaines contaminations ont pu fausser les résultats en augmentant de quelques unités le nombre des examens positifs, inversement le fait de n'avoir pratiqué qu'un seul examen, avec ensemencement d'une quantité minime de matériel a probablement restreint le nombre des expectorations positives.

Infections mixtes. — A six reprises, deux champignons levuriformes ont pu être isolés d'une même expectoration. Les associations rencontrées ont été les suivantes : *C. tropicalis* et *C. krusei* (deux fois), *C. albicans* et *C. krusei*, *C. albicans* et *C. tropicalis*, *C. guilliermondi* et un *Candida* azymatique, *C. parapsilosis* et une levure.

Ce pourcentage important d'infections mixtes (15 p. 100 ici) est cependant inférieur à la réalité car, en pratique, le diagnostic ne peut se faire que sur une différence macroscopique d'aspect entre les colonies des deux levures ; or bien souvent cette différence n'existe pas et l'on passe alors à côté de l'association.

Deux fois il a été possible d'examiner l'expectoration d'un malade à quelques jours d'intervalle et de contrôler ainsi la permanence de l'association. Il s'agissait dans un cas de *C. albicans* et de *C. krusei*, et dans l'autre de *C. tropicalis* et de *C. krusei*.

Des infections mixtes n'ont été que très rarement signalées dans l'expectoration. Dietrichson a cependant isolé de trois sujets suspects de tuberculose *C. albicans* à côté de *C. triadis*, mais la validité de cette espèce est très discutée, puisque individualisée en 1932 par Langeron et Talice, en 1945, Langeron admet que ce n'est qu'une variété de *C. albicans*. Castellani [6], de son côté, a isolé d'une expectoration, à trois reprises, simultanément des souches S et R de *C. tropicalis*.

Les souches isolées. — Au total, 44 souches de champignons levuriformes ont donc été isolées par l'examen de 100 expectorations de tuberculeux à bacilloscopie positive.

Trois souches ont été perdues en cours d'isolement ou de purification après qu'un examen direct d'une colonie du premier ensemencement

cement eut permis d'affirmer la présence d'un champignon levuriforme. Dans deux de ces cas, il s'agissait d'une colonie mixte où les cellules de levures étaient associées à des germes encapsulés.

Trois souches n'ont pas présenté de pseudo-mycélium et ne peuvent donc être classées avec certitude dans le genre *Candida*. Cependant, si l'une d'elles, levure azymatique dont les colonies sont fortement pigmentées en jaune, n'est pas une *Candida*, les caractères cultureux et biochimiques des deux autres permettent de les rattacher à ce genre avec peu de risques d'erreur.

Ainsi sur 44 souches isolées, 38 possèdent les caractères morphologiques et cultureux du genre *Candida*, 2 souches font probablement partie de ce genre, 1 souche appartient à un germe non déterminé, 3 souches n'ont pu être cultivées.

Les 40 souches de *Candida* se répartissent de la façon suivante :

ESPÈCES	NOMBRE DE SOUCHES	POURCENTAGES par rapport au nombre d'expectorations
<i>C. albicans</i>	20	20
<i>C. tropicalis</i>	3	8
<i>C. krusei</i>	3	3
<i>C. parapsilosis</i>	3	3
Groupe <i>guillermonti</i> . . .	3	3
Groupe azymatique. . . .	3	3
Total	40	

Aucune remarque n'est à faire sur les souches des espèces *albicans*, *tropicalis*, *krusei*, *parapsilosis*, qui toutes présentent des caractères classiques. Pour *C. albicans*, en particulier, aucune souche ne donnait de voile en bouillon Langeron.

Pour les 3 souches du groupe *guillermonti*, un complément d'étude est nécessaire. En effet, si ces souches, par leur pouvoir fermentaire net pour le glucose et le saccharose, appartiennent certainement à ce groupe, toutes les 2 ont un auxanogramme des sucres positif pour le maltose et le galactose, ce qui ne cadre pas avec les données classiques concernant les deux espèces du groupe : *C. guillermonti* et *C. macedoniensis*. L'une de ces souches d'ailleurs n'a pu être observée sous sa forme pseudo-filamenteuse.

Les 3 souches azymatiques, enfin, dont l'auxanogramme des sucres n'est positif que pour le glucose, doivent également faire l'objet d'une étude ultérieure.

Résumé. — L'ensemencement de l'expectoration de 100 tuberculeux à bacilloscopie positive permet de cultiver trente-huit fois des champignons levuriformes. Six expectorations donnèrent à l'isolement, simultanément, deux espèces différentes.

Sur 40 souches de *Candida* étudiées, 20 étaient des *C. albicans*, 8 des *C. tropicalis*, 3 des *C. krusei*, 3 des *C. parapsilosis*, 3 appartenaient au groupe *guillermonti* et 3 enfin au groupe azymatique.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] M. LANGERON. *Précis de Mycologie*, Masson, édit., Paris. 1945
- [2] N. GOHAR. *J. trop. Med.*, 1939, **42**, 229.
- [3] E. DIETRICHSON. *Ann. Parasitol.*, 1950, **25**, 85 et 200.
- [4] C. E. SKINNER. *Bact. Rev.*, 1947, **11**, 227.
- [5] M. LANGERON et P. GUERRA. *Ann. Parasitol.*, 1938, **16**, 36.
- [6] A. CASTELLANI. *J. trop. Med.*, 1938, **41**, 277.

SALMONELLA PARATYPHI B²
DANS UNE PYÉLONÉPHRITE SECONDAIRE
A UNE TOXI-INFECTION ALIMENTAIRE

par R. BUTTIAUX et G. ROULIN.

(Institut Pasteur de Lille
 et Laboratoire de Bactériologie de la 2^e Région militaire.)

Kristensen et Bojlen [1], les premiers, ont décrit une variété de *S. paratyphi* B, possédant les antigènes normaux de cette espèce, mais fermentant le *d*-tartrate. On l'appelle *S. paratyphi* B². On admet généralement que le type B¹ est responsable des syndromes d'allure typhique, alors que B² ne produit que des gastro-entérites bénignes. Bojlen, Clemmesen et Lomholt [2] l'ont trouvé cent trente-sept fois dans une même épidémie (28 gastro-entérites aiguës, 36 diarrhées apyrétiques, 73 infections inapparentes) ; Petersen [3] l'a isolé dans 5 diarrhées du nourrisson et Hormaeche, Paluffo et Aleppo [4] chez des enfants, à Montevideo. Ce type B² est surtout fréquent à Java où il possède, en général, la propriété de ne se présenter qu'en phase 1, d'où son nom de *S. paratyphi* B, variété Java (De Moor et Erber [5]). Ces observations sont classiques. Plus récemment Edwards, Bruner et Moran [6] ont signalé l'isolement de 84 de ces germes aux U. S. A. Kauffmann [7, 8] a repris l'étude bactériologique de la plupart de ces souches, et la variété *S. paratyphi* B² a acquis maintenant une individualité indiscutable.

Elle est rarement en cause dans les épidémies de salmonelloses de nos régions européennes. Kristensen et Bojlen [1] la signalent une fois parmi 1 017 *S. paratyphi* B isolées. Buttiaux, Le Minor et Kesteloot [9] en trouvent 3 dans 259 des salmonelles d'espèces diverses rencontrées dans le Nord de la France. Beaucoup de statistiques n'en font pas mention.

La rareté de sa découverte ou de son identification complète incite à ne pas affirmer, sans contrôle ultérieur, la bénignité des manifes-

lations cliniques qu'elle produirait chez l'homme. L'observation suivante en est une preuve :

Ch..., soldat de 20 ans, présente une pyélonéphrite gauche. L'urine contient du pus en abondance. On y trouve de très nombreux germes ; il s'agit de *S. paratyphi* B² à l'exclusion de tout autre microbe. Les troubles urinaires ont commencé un an auparavant, deux mois après une toxi-infection alimentaire occasionnée par la consommation de conserves alimentaires de mauvaise qualité. Les symptômes digestifs, diarrhée et vomissements, ont duré quelques jours, mais la température, d'abord à 40°, n'a baissé que lentement. Au cours du deuxième mois, elle dessinait encore des clochers intermittents à 39° et 40°. On constate alors des troubles urinaires, lombalgie et pyurie. Cette dernière dure treize mois et amène le jeune soldat à l'hôpital, au moment de son incorporation. C'est à ce moment que nous isolons *S. paratyphi* B². On confirme l'existence d'une pyélonéphrite gauche par tous les examens appropriés.

Cette observation est remarquable à divers points de vue :

1° *S. paratyphi* B², considéré comme généralement bénin, a produit, ici, des lésions relativement graves et tenaces (treize mois) de l'arbre urinaire.

2° Sa présence dans ce type de lésions a été rarement signalée, à notre connaissance. De Moor fait mention, cependant, d'une cystite due à ce germe.

3° L'élimination ne se faisait que par les urines ; deux coprocultures n'ont pas permis de trouver le germe dans les fèces.

4° La guérison a été rapidement obtenue par l'absorption de chloromycétine.

5° Les auteurs qui ont étudié *S. paratyphi* B² signalent qu'on le rencontre presque exclusivement chez des enfants ou des adultes à l'état général déficient. Il s'agissait, ici, d'un adulte solide, pesant 70 kg pour une taille de 1,70 m.

Notre observation présente, par ailleurs, un certain intérêt d'ordre bactériologique.

A l'isolement sur milieux solides, le germe fournissait deux sortes de colonies : les unes, S, avaient un aspect normal ; les autres étaient plates, larges, de consistance visqueuse, absolument transparentes (fig. 1). Elles n'avaient pas l'aspect des colonies muqueuses ; elles le prenaient discrètement, mais nettement sur gélose-sérum ; sur gélose saccharosée, elles fournissaient d'énormes colonies analogues à celles des *Klebsiella*. Les formes S avaient la structure antigénique : IV, V, XII ; b : 1, 2. Les colonies transparentes étaient formées de germes O inagglutinables ; les antigènes IV, V, XII ne pouvaient être décelés qu'après chauffage de la souche, à 100° durant deux heures. Il s'agissait donc vraisemblablement de formes M ; l'existence d'une capsule était évidente, d'ailleurs, sur les microbes cultivés sur gélose-sérum. Il nous a été impossible de préciser les relations entre cet antigène M et l'antigène K des *Klebsiella*, comme l'a fait Beate Perch [40], par manque des sérums agglutinants nécessaires.

Les formes S et M possédaient des propriétés biochimiques identiques ; elles fermentaient également le *d*-tartrate, en particulier. Elles

étaient également sensibles à la chloromycétine (3 µg par centimètre cube) et à l'auréomycine (1,8 µg).

Il faut noter, enfin, que le sérum de ce porteur chronique agglutinait *S. paratyphi* B à des taux faibles : 0 à 1/40, H à 1/320.

En conclusion, *S. paratyphi* B², considéré comme ne provoquant que des intoxications alimentaires bénignes, a déterminé, dans notre

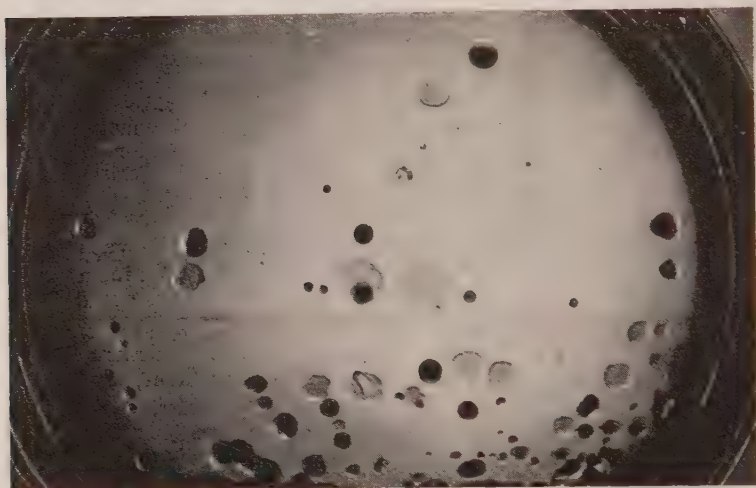


FIG. 1. — *S. paratyphi* B² sur gélose nutritive ordinaire à 10 p. 1 000 de gélose. Colonies opaques S, et colonies plates, transparentes, « filantes ».

observation, des lésions sérieuses et tenaces de l'arbre urinaire d'un adulte robuste. Comme toutes les *S. paratyphi* B, la variété B² peut posséder un antigène M ; les colonies M présentent, ici, à l'isolement sur milieu solide, un aspect anormal.

BIBLIOGRAPHIE

- 1] M. KRISTENSEN et K. BOJLEN. *Zentralbl. Bakt.*, 1929, **114**, 86.
- 2] K. BOJLEN, C. CLEMMESSEN et M. LOMHOLT. *Bibl. Laeg. (Dün)*, 1937, **129**, 401. Refer. in *Zbl. Hyg.*, 1938, **41**, 350.
- 3] K. F. PETERSEN. *Zeitschr. Hyg.*, 1949, **129**, 634.
- 4] E. HORMAECHÉ, C. A. PALUFFO et P. L. ALEPPO. *Arch. Pediat. Uruguay*, 1942, **13**, 368.
- 5] DE MOOR et ERBER, cités par F. KAUFFMANN, in *Die Bakteriologie der Salmonella Gruppe*, 1941.
- 6] P. R. EDWARDS, D. W. BRUNER et Alice B. MORAN. *J. inf. Dis.*, 1948, **83**, 220.
- 7] F. KAUFFMANN. *Die Bakteriologie der Salmonella Gruppe*, Copenhague, 1941.
- 8] F. KAUFFMANN. *Enterobacteriaceae*, Ejn. Munksgaard, éditeur, Copenhague, 1951.
- 9] R. BUTTIAUX, L. LE MINOR et A. KESTELOOT. *Ces Annales*, 1950, **78**, 147.
- 10] BEATE PERCH. *Acta pathol. microb. scandin.*, 1950, **27**, 565.

PRESENCE A SAÏGON DE *SALMONELLA HEIDELBERG* (HABS)

par R. SEYS et E. R. BRYGOO

(Institut Pasteur, Saïgon.)

Des travaux récents ont signalé l'intérêt des affections à bacilles paratyphiques du groupe B : J. Boyer, L. Corre et M. Tissier [1] rapportent que de 1943 à 1949, à Paris, sur 3 281 cas d'affections typhoparatyphoïdiques, il y eut 1 534 cas de paratyphoïdes B, soit 46,76 p. 100. Ils signalent que les affections à para B frappent surtout l'enfant et l'adolescent : 54 cas sur 68 chez des enfants de 2 ans ; 51 cas sur 67 chez des enfants de 3 ans. Dans quatre articles, J. Marie, P.-H. Seringe, L. Le Minor et Eliachar [2] étudient les affections à *Salmonella typhi murium* chez les nourrissons, avec leurs deux formes cliniques de septicémie et de diarrhée spécifique.

A Saïgon, le bacille para B est rare, très rare même.

J. Delbove et V. Reynes, en 1942, n'avaient trouvé le para B que vingt fois sur 998 hémocultures positives (soit 2,13 p. 100) contre 881 *Salmonella typhi* et 27 *Salmonella paratyphi* A. Ils signalaient que l'on rencontre le bacille para B au cours d'affections diverses où il ne joue qu'un rôle effacé. En 1949, sur 365 salmonelles isolées au Laboratoire de Microbiologie humaine, on ne trouve aucun para B. En 1950, sur 258 salmonelles, deux para B sont isolés d'un pus et d'un épanchement articulaire.

En mai 1951, le Dr Lesnard demande une coproculture pour un enfant de 2 ans. L'histoire clinique se résume à très peu de chose : il s'agissait d'une diarrhée fébrile banale chez un enfant ayant présenté les jours précédents quelques poussées analogues sans gravité apparente. Sur le résultat de la coproculture, l'enfant a été hospitalisé et traité par le chloramphénicol. Il n'y a pas eu de rechutes (Dr Brusq).

La selle est glaireuse, de réaction acide, contenant de nombreux leucocytes, mais pas de parasites ; elle estensemencée sur gélose de Mac Conkey sans enrichissement préalable. Le lendemain, parmi d'autres colonies sans intérêt, on repique des colonies claires, formées de bacilles à Gram négatif, mobiles, ayant les caractères biochimiques courants des salmonelles. L'agglutination, pratiquée avec des sérums polyvalents de l'Institut Pasteur, montre qu'il s'agit d'une salmonelle du groupe B.

On complète alors la recherche des caractères biochimiques et l'on arrive à la gamme suivante :

Lactose et saccharose.	0	
Glucose, maltose, mannite	0	Production d'acide et de gaz.
Dulcité, rhamnose, xylose et arabinose.	0	Production d'acide.
Lait tournesolé.	0	
Uréase (Ferguson)	0	
Citrate de soude (Simmons).	0	
Rouge neutre.	0	Réduit et fluorescent.
H ₂ S	+	
Acétyl-méthyl-carbinol	0	
Rouge de méthyl.	+	
Indol.	0	

Le pouvoir pathogène de ce germe est net sur le cobaye. Après inoculation de 2 cm³ d'une culture de dix-huit heures, en bouillon, on obtient :

Voie intrapéritonéale. — Mort du cobaye en dix-huit heures, avec congestion des viscères abdominaux et des surrénales. Les rétrocultures, faites à partir de l'exsudat péritonéal et du sang du cœur, donnent la même salmonelle à l'état pur.

Voies sous-cutanée et intramusculaire. — Mort du cobaye en trente-six à quarante-huit heures, avec œdème gélatineux au point d'inoculation, congestion des viscères abdominaux et des surrénales. Les rétrocultures, pratiquées à partir de l'œdème et du sang du cœur, donnent toujours le même germe à l'état pur.

L'identification sérologique, demandée à l'Institut Pasteur de Paris, montre qu'il s'agit de *Salmonella heidelberg*, ayant les antigènes IV, V, r — (Le Minor).

Un séro-diagnostic, pratiqué chez l'enfant deux mois après l'isolement du germe, donne les résultats suivants :

T, A, B, C (type O)	Négatifs.
<i>Salmonella heidelberg</i> ,	1/100

Pensant à la possibilité d'une infection familiale, nous pratiquons simultanément chez la mère de l'enfant un séro-diagnostic qui donne effectivement :

T, A (type O).	Négatifs.
<i>Salmonella para B</i>	1/100
<i>Salmonella para C</i>	1/30
<i>Salmonella heidelberg</i>	1/100

RÉSUMÉ. — A Saigon, *Salmonella heidelberg* a été isolée, par coproculture, chez un enfant de 2 ans, au cours d'un épisode diarrhéique. Deux mois plus tard, le séro-diagnostic était encore positif à 1/100 pour cette salmonelle chez l'enfant et chez sa mère.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] J. BOYER, L. CORRE et M. TISSIER. *La Presse Médicale*, 1951, 59, 47.
[2] J. MARIE et coll. *Semaine des Hôpitaux de Paris*, 1951, 615.

AU SUJET D'UN BACILLE COLIFORME AYANT L'ANTIGÈNE SOMATIQUE IX DE *SALMONELLA TYPHI*

par E. VAN OYE.

(Institut de Médecine Tropicale « Princesse Astrid »,
Léopoldville, Congo Belge.)

La souche D.139, qui fait l'objet de cette communication, a été isolée en janvier 1951 par coproculture chez une femme indigène

vivant près de Luluabourg, au centre du Congo Belge, et souffrant d'un syndrome typhoïdique. En voici les caractéristiques :

1° *Morphologie*. — Il s'agit de bacilles Gram-négatifs, possédant des flagelles péritriches, et ayant l'aspect général des colibacilles.

2° *Propriétés biochimiques*. — La souche est mobile, mucoïde, aérobie. Elle ne produit pas d'indole ni d'H₂S. Les hydrates de carbone suivant sont attaqués, avec production de gaz, dans les vingt-quatre heures : glucose, saccharose, mannite, maltose, xylose, rhamnose, arabinose, sorbite, tréhalose et salicine ; le lactose est fermenté tardivement entre le troisième et le septième jour, tandis que la dulcité, l'inosite et l'adonite ne sont pas attaquées. La gélatine est liquéfiée après une semaine, mais pas le sérum coagulé ni l'albumine. Il n'y a pas de décomposition de l'urée. La réaction au rouge de méthyle est négative, celle de Voges-Proskauer positive. Le citrate de soude aussi bien que le *d*-tartrate sont utilisés rapidement. Il n'y a ni chromogénèse, ni présence d'hémolysines.

A cause de ses caractères biochimiques, il n'est guère possible de classer notre D. 139 dans un groupe bien déterminé parmi les entérobactéries ; il est apparenté de très près aux *Escherichiae*, et le terme général de « coliforme » nous semble le mieux convenir.

3° *Colonies*. — Sur milieux solides, les colonies sont au début rondes, lisses et transparentes ; elles deviennent rapidement opaques et prennent, parfois déjà après vingt-quatre heures, une forme annulaire avec dépression centrale. Après plusieurs jours, ces colonies deviennent plus ou moins irrégulières, donnant l'impression d'émettre des pseudopodes. Finalement, des dendrites s'élancent dans toutes les directions.

La culture en milieu liquide est d'abord homogène, mais un dépôt plus ou moins visqueux ne tarde pas à se former.

4° *Structure antigénique*. — Nous avons préparé des sérums O avec des antigènes bouillis pendant deux heures et demie de notre coliforme D. 139 et d'une souche de *Salmonella typhi* typique (D. 2406) isolée dans notre laboratoire. Au cours de nos recherches, nous avons aussi employé un antigène O préparé avec une culture de *Salmonella*

TAUX D'AGGLUTINATION DES ANTIGÈNES

	Coliforme D. 139	<i>S. typhi</i> D. 2406	<i>S. heidelberg</i>
Sérum coliforme D. 139 non absorbé.	640	640	0
Sérum absorbé par coliforme D. 139.	0	0	0
Sérum absorbé par <i>S. typhi</i> D. 2406.	0	0	0
Sérum <i>S. typhi</i> D. 2406 non absorbé.	640	2 560	320
Sérum absorbé par <i>S. typhi</i> D. 2406.	0	0	0
Sérum absorbé par coliforme D. 139.	0	320	320
Sérum absorbé par <i>S. heidelberg</i> . .	640	640	0
Sérum absorbé par <i>S. heidelberg</i> + coliforme D. 139.	0	0	0

heidelberg, également isolée dans notre laboratoire, et ceci pour l'étude des antigènes non spécifiques I et XII.

Les résultats des réactions d'agglutination, avant et après absorptions homologues et réciproques, sont exposés dans le tableau ci-dessus.

De ces recherches se dégage la conclusion que notre coliforme D. 139 possède l'antigène somatique IX de *Salmonella typhi*, mais qu'il n'en possède pas les antigènes non spécifiques I et XII.

L'antigène Vi est également absent.

La souche D. 139 ne possède pas non plus d'antigène flagellaire connu commun avec les *Salmonella* (Dr Kauffmann, communication personnelle).

BIBLIOGRAPHIE

F. KAUFFMANN. *Enterobacteriaceae*, Ejnar Munksgaard, édit., Copenhague, 1951.

CORYNEBACTERIUM ENDOCARDITIS

ÉTUDE DE DEUX SOUCHES

par P. BROUSTET, J. BRISOU et Ch. BERGE.

(Chaire de Cardiologie de la Faculté de Médecine
et Ecole de Santé Navale, Bordeaux.)

La médulloculture a permis à deux auteurs espagnols, J. Diaz et E. Arjona [1], en 1949, d'isoler une Corynébactérie chez des malades atteints d'endocardite subaiguë.

L'étiquette *Corynebacterium endocarditis* fut proposée pour désigner cette nouvelle bactérie qui ne semble pas avoir été signalée de nouveau depuis cette publication princeps.

A l'occasion d'hémocultures systématiques effectuées chez des malades de Bordeaux et de la région, nous avons pu obtenir à deux reprises une Corynébactérie en tous points comparable à celle décrite par Diaz et Arjona. Il s'agit d'un germe ayant tous les caractères morphologiques classiques des *Corynebacterium* :

Bacille Gram-positif ; structure finement granuleuse, disposition en amas, palissades, formes en massues fréquentes.

Les techniques spéciales de coloration mettent aisément des corpuscules métachromatiques en évidence. Il n'y a pas de cils, pas de capsules ni de spores.

Caractères biologiques et cultureux. — La culture de cette bactérie est difficile, ce qui explique peut-être qu'elle n'ait pas été décrite plus souvent. Les hémocultures doivent être repiquées très souvent et de préférence sur une gélose au sang.

Sur ce milieu de choix, apparaissent de petites colonies punctiformes, transparentes, qui s'opacifient peu à peu. Aucune hémolyse ne se produit dans les jours à venir.

Sur gélose ordinaire, culture grêle et lente (quatre à cinq jours) devenant un peu plus abondante par entraînement.

Sur sérum coagulé : petites colonies fines.

Gélose à l'œuf : culture assez riche, comparable à celle que l'on obtient sur la gélose au sang.

Gélose profonde de Veillon : les germes cultivent surtout en surface en donnant de très petites colonies.

En bouillon ordinaire, culture lente. Apparition dans les quarante-huit à soixante-douze heures d'un dépôt pulvérulent. Le milieu reste clair.

Action sur les glucides : nulle. Les tests ont été exécutés en milieu de Hiss en présence des sucres suivants : glucose, raffinose, lactose, mannitol, sorbitol, inositol, inuline, esculine, amidon.

Lait : non coagulé.

Lait tournesolé : inchangé.

Gélatine : non attaquée.

La vitalité dans les milieux de culture est très faible ; le germe meurt en moins de dix jours.

Pouvoir pathogène expérimental. — Nul pour les souris blanches inoculées par la voie intrapéritonéale et sous-cutanée.

Sensibilité aux antibiotiques. — Le titrage de cette sensibilité est rendu difficile par suite de la lenteur de culture du germe, et de ses exigences. Nous avons pu approximativement apprécier cette sensibilité sur gélose au sang par la méthode de Heatley et en bouillon VFP [2]. Les chiffres trouvés sont les suivants : Pénicilline, 0,09 U O ; Streptomycine, 0,17 μ g ; Auréomycine, 1,8 à 5 μ g ; Chloromycétine, 7,2 à 15,4 μ g.

Renseignements cliniques succincts. — Les deux malades présentaient des signes cliniques d'endocardite subaiguë évoluant depuis un certain temps et font du reste l'objet d'une étude plus détaillée [3] à l'intention des cliniciens. La guérison de l'affection fut dans les deux cas obtenue grâce à l'action combinée de divers antibiotiques sur les indications du laboratoire.

CONCLUSIONS. — Nous rapportons l'isolement par hémoculture chez deux malades atteints d'endocardite subaiguë d'une Corynébactérie dite *endocarditis*, comparable en tous points à celle décrite par Diaz et Arjona. Cette Corynébactérie s'est montrée sensible *in vitro* à la pénicilline et à la streptomycine. Les malades traités ont guéri.

Il est certain qu'il n'est pas rare de rencontrer des Corynébactéries dans les hémocultures. On a le plus souvent tendance à les envisager comme des souillures. Il semble que la question mérite d'être reconsidérée. *Corynebacterium endocarditis* ne peut en aucun cas se confondre avec les autres Corynébactéries saprophytes.

BIBLIOGRAPHIE

[1] J. DIAZ et E. ARJONA. *Bull. Inst. med. Res.*, Madrid, 1949, 2, 71.

[2] J. BRISOU. *Ces Annales*, 1950, 79, 331.

[3] P. BROUSTET, Ch. BERGE et J. BRISOU. *J. Méd. Bordeaux et Sud-Ouest*, 1951 (*sous presse*).

Les communications suivantes paraîtront en *Mémoire* dans les *Annales de l'Institut Pasteur*.

Schémas lysotypiques anormaux. Leur intérêt pour la création éventuelle de nouveaux types bactériophagiques de *S. typhi* et de *S. paratyphi* B et le contrôle de l'identité de ces *Salmonella*, par P. NICOLLE, L. et S. LE MINOR et M^{me} G. DIVERNEAU.

Recherches sur les bactéries anaérobies de la Terre Adélie, par A.-R. PRÉVOT et M. MOUREAU.

Le conflit cellules-microorganismes. La phagocytose provoquée, par L. DUCHON.

Comparaison des lésions histologiques provoquées chez le rat blanc par l'inoculation du bacille de Hansen et de divers autres bacilles acido-résistants, par Sœur MARIE-SUZANNE, R. NOËL et R. SOHIER.

Le déterminisme de la sporulation de *B. megatherium*. III. L'effet d'une aération insuffisante sur les cultures agitées de deux variants d'une même souche, par N. GRELET.

INFORMATION

La Société Américaine pour l'Etude de la Stérilité annonce, pour 1952, un concours destiné à récompenser le meilleur travail sur la question de la stérilité. Le gagnant recevra un prix de 1 000 dollars et son mémoire sera inscrit au programme de la session de 1952 de la Société. Les manuscrits devront parvenir à la Société avant le 1^{er} mars 1952.

Pour tous détails concernant ce concours, s'adresser à : *The American Society for the Study of Sterility*, 20 Magnolia Terrace Springfield, Massachusetts, U. S. A.

LIVRES REÇUS

A. Jaulmes, A. Jude et J. Quérangal des Essarts. — *Pratique du Laboratoire (Techniques générales, diagnostics biologiques, hématologie, sérologie, parasitologie et entomologie médicales, technique anatomo-pathologique)*. Masson et C^{ie}, éditeurs, 1951, 699 pages, prix : 3 000 fr.

Les auteurs de ce manuel se sont proposé de rassembler sous une forme aussi condensée et aussi pratique que possible, tout un

ensemble de connaissances que l'on trouve habituellement dispersées dans de nombreux ouvrages, et de présenter au lecteur toutes les techniques les plus récentes.

Après une première partie consacrée à des généralisations sur l'équipement et les techniques de laboratoire, la biologie microbienne (culture, etc.), les antibiotiques et l'expérimentation sur les animaux, une seconde partie étudie les diagnostics biologiques et cyto-bactériologiques, l'hémoculture, les tests cutanés, le diagnostic hormonal. Une troisième partie passe en revue tout ce qui concerne l'hématologie et la sérologie, avec un chapitre important consacré aux groupes sanguins, à la transfusion sanguine et à la technique du séro-diagnostic de diverses maladies (syphilis, tuberculose, paludisme, etc.). Une quatrième partie fait suite, étudiant la parasitologie, l'entomologie et la malacologie médicale. Enfin les auteurs ont ajouté une cinquième et dernière partie de technique anatomo-pathologique : prélèvements, fixation, colorations, diagnostic anatomo-pathologique. Un index analytique important facilite beaucoup l'usage de ce volume.

H. T.

Leon A. Greenberg. — *Antipyrine*. Hillhouse Press, New Haven, Conn., 1950, prix : doll. 4,00.

Le présent volume est le troisième d'une série de revues critiques de la bibliographie sur les médicaments analgésiques et sédatifs, le premier ayant traité de l'acétanilide, le second des salicylates. Il passe en revue l'historique de la question, les propriétés physico-chimiques de l'antipyrine, son sort dans l'organisme, sa pharmacologie et sa toxicologie, ses indications thérapeutiques, les intoxications qu'elle peut provoquer, et enfin la tolérance de l'organisme à la drogue. L'ouvrage ne comporte pas moins de 1 735 références bibliographiques qui comprennent la totalité des travaux sur la question et qui constituent la base du présent volume.

H. T.

H. Schmidt. — *Fortschritte der Serologie. 8. Lieferung.* 163 p. Dietrich Steinkopf, édit., Darmstadt, 1951.

Huitième fascicule qui termine l'étude de la fixation de l'anticorps par l'antigène et les phénomènes qui l'accompagnent, examine la question de la formation des anticorps (anticorps chez les nouveau-nés, transmission héréditaire des anticorps, anticorps « normaux », rôle des adjuvants, etc.) et du lieu de cette formation, des anticorps cellulaires et des anticorps sériques, et enfin des divers facteurs (régime alimentaire, hormones, rayons X, système nerveux, etc.), qui influencent cette formation.

H. T.

E. J. Pampana. — *Lutte antipaludique par les insecticides à action rémanente. Résultats des grandes campagnes. Organisation Mondiale de la Santé.* Monographie n° 3, 72 p., prix : s. 4 ou doll. 1,00.

Revue d'ensemble des résultats obtenus dans la lutte contre le paludisme au moyen du DDT et de l'hexachlorocyclohexane dans les divers

pays du monde. En Europe en particulier, le paludisme, qui était un fléau historique, a été presque complètement vaincu, comme le prouvent les résultats des campagnes effectuées en Grèce et en Italie. Dans les autres parties du monde, on observe une nette régression de l'endémie paludéenne, qui se traduit par la baisse des taux de la morbidité et de la mortalité. Enfin les chapitres concernant les doses d'insecticides employées, le cycle des traitements, le coût de la lutte, etc., contiennent des renseignements utiles pour les autorités sanitaires chargées de faire appliquer les mesures de désinsectisation.

H. T.

ERRATUM

Ces *Annales*, **81**, mémoire F. van Deinse : « Considérations sur la valeur de la vaccination antituberculeuse par le BCG », p. 126, lignes 1 à 3. *Au lieu de* : « Le XIX^e Congrès de l'Office International des Epizooties (O. I. E.), tenu à Paris du 21 au 26 mai 1951, sous la présidence du Professeur Ramon... », *il faut lire* : « Le XIX^e Congrès de l'Office International des Epizooties (O. I. E.), tenu à Paris du 21 au 26 mai 1951, sous la présidence de Sir Daniel Cabot... »

TABLE ANALYTIQUE

DU TOME 81

<i>Acétyl-méthyl-carbinol</i> . Variabilité de la production et de la destruction de l'— — — par certaines bactéries anaérobies sporulées.	93
<i>Acriflavine</i> . Action sur les levures. Détermination du composant actif et étude de l'eufflavine.	452
<i>Actinobacterium baudeti</i> . Voir — <i>cellulitis</i> .	
— <i>cellulitis</i> et — <i>baudeti</i> . Recherches comparatives.	173
— <i>meyeri</i> P. 1938.	92
<i>Actinomycose</i> . Infection purulente d'allure actinomycosique chez le chat.	85
<i>Acuiformis filamentosus</i>	339
<i>Anaérobie</i> . Voir <i>Bifidibacterium cornutum</i> .	
<i>Anaérobies</i> . Nouveau milieu pour la culture des —	88
— Recherches sur la pollution des venins de serpent par les — et leur stérilisation.	665
<i>Anaphylaxie</i> . Voir <i>Cortisone</i> .	
<i>Antibiotique</i> . Méthode pour la mesure de l'activité d'un —	102
<i>Antibiotiques</i> et lyse bactériophagique. Action de la Terramycine sur la lyse bactériophagique.	221
— Influence de la réductose sur le comportement des bactéries aérobies vis-à-vis des —	231
— (<i>Néomycine</i> , <i>viomycine</i> et <i>streptomycine</i>). Comparaison de l'activité antituberculeuse.	320
— Voir <i>Mycobacterium tuberculosis</i> .	
<i>Anticorps</i> . Nouvelle méthode de dosage de l'— anaphylactique et son rapport avec l'azote de l'—.	670
— <i>antipoliomyélitiques</i> neutralisant la souche Lansing et incidence de la poliomyélite au cours d'une épidémie hivernale dans une population isolée.	583
<i>Antigènes</i> . Voir <i>Œuf de cane</i> .	
— Vi. Voir <i>Bactériophage Vi</i> .	
<i>Antityphoïdique</i> (séro-protection). Test de séro-protection — sur l'embryon de poulet.	528
<i>Auréomycine</i> . Action de l'— sur le virus rabique.	83
— Voir <i>Brucellose</i> .	

<i>Avitaminose</i> et streptomycinothérapie dans la tuberculose pulmonaire.	672
<i>Babesiose des Souris</i> . Hémoglobinurie.	608
<i>Bacille acido-résistant</i> . Etude comparative d'un — — — isolé par culture d'un léprome humain et du bacille de Hansen. . .	238
— <i>de Hansen</i> . Voir <i>Bacille acido-résistant</i> .	
— <i>du Charbon</i> . Voir <i>Calcium</i> .	
<i>Bacilles paratyphiques B</i> . Facteurs qui conditionnent l'appartenance des — — aux différents types bactériophagiques de Felix et Callow. — Transformations de types par l'action des bactériophages extraits des bacilles lysogènes.	614
— <i>tuberculeux</i> . Voir <i>Benzoate</i> .	
— — Augmentation du volume du — — de Koch en présence d'acide <i>p</i> -aminosalicylique (PAS).	328
— — Sensibilité du — — à la para-acétylbenzaldéhyde-thiosemicarbazone (TbI) en milieu de Youmans.	324
— — Variation de la teneur en lipides du — —, en fonction de l'âge de la culture.	306
— — Voir <i>Vaccination antidiphthérique</i> .	
<i>Bacillus megatherium</i> . Déterminisme de la sporulation de — —. Effet de l'épuisement de l'aliment carboné en milieu synthétique.	430
— — <i>de Bary</i> . Forme atypique de — — — : <i>B. megatherium</i> var. <i>Capillatum</i>	113
<i>Bactérie lysogène</i> . Voir <i>Ultra-violet</i> .	
<i>Bactéries</i> . Voir <i>Eau</i> .	
— Voir <i>Polyosides</i> .	
<i>Bactéries aérobies</i> . Voir <i>Réductose</i> .	
— <i>anaérobies</i> . Voir <i>Acétyl-méthyl-carbinol</i> .	
<i>Bactériophage</i> . Voir <i>Chloromycétine</i> .	
— Voir <i>Rayons X</i> .	
<i>Bactériophage Vi</i> . Démonstration, par l'épreuve des — —, d'une analogie physiologique entre les antigènes Vi présents, chez des espèces bactériennes différentes.	473
<i>Bactériophagique</i> (lyse). Action de la terramycine sur la lyse —, étudiée au microbiophotomètre.	221
<i>Bactériophagiques</i> (types) de Felix et Callow.	614
— Présence de deux types — dans une culture de <i>Salmonella typhi</i>	245
<i>B.A.L.</i> (2,3-Dimercaptopropanol). Voir <i>Brucellose</i> .	
<i>BCG</i> . Considérations sur la valeur de la vaccination antituberculeuse par le —.	126
— <i>congelé-desséché</i> . Réactions locales dites « accélérées », consécutives à la vaccination par voie intradermique avec du — — —.	43

<i>Benzoate</i> . Effet du — et du salicylate sur la respiration des bacilles tuberculeux virulents et avirulents.	550
<i>Bichlorhydrate d'histamine</i> . Effets analgésiques des administrations répétées de — — chez le rat.	281
<i>Bifidobacterium cornutum</i> P. 1939. Espèce anaérobie	97
<i>B. megatherium</i> lysogène. Voir <i>Rayons X</i> .	
<i>Botulisme équin</i> expérimental.	334
<i>Brucellose</i> . Traitement de la — expérimentale du cobaye par le B.A.L seul ou associé au chloramphénicol ou à l'auréomycine.	541
<i>Calcium</i> . Exigences en — du phage de Lisbonne.	489
— Influence du — sur l'atténuation du bacille du charbon par la méthode de Pasteur.	424
<i>Cancer expérimental</i> . Action de la thyroïdectomie sur la croissance du — — greffé du rat blanc.	357
<i>Cane</i> . Voir <i>Oeuf de Cane</i> .	
<i>Caries dentaires</i> . Flore microbienne.	355
<i>Catenabacterium cateniforme</i> et son pouvoir pathogène.	337
Cellulolyse bactérienne. Importance des techniques pour son étude.	179
<i>Champignons</i> . 40 souches de <i>Candida</i> isolées à Saïgon de l'expectoration de tuberculeux.	676
— <i>levuriformes</i> . Voir <i>Mycobacterium tuberculosis</i> .	
<i>Charbon</i> . Voir <i>Calcium</i> .	
<i>Chat</i> . Infection purulente d'allure actinomycosique chez le —.	85
<i>Chloramphénicol</i> . Voir <i>Brucellose</i> .	
<i>Chloromycétine</i> . Action de la — sur la multiplication du Bactériophage.	514
<i>Choléra</i> . Modifications <i>in vivo</i> des caractères de quelques vibrions isolés des eaux en période d'épidémie de —.	275
<i>Cl. chauvœi</i> . Voir <i>Toxine de —</i> .	
<i>Cobaye</i> . Action d'un antihistaminique de synthèse sur la tuberculose expérimentale du —.	118
— Voir <i>Brucellose</i> .	
— Voir <i>Cortisone</i> .	
— Voir <i>Virus fixe</i> (souche Pasteur).	
<i>Collagénases microbiennes</i> . Mise en évidence.	117
<i>Corps de Negri</i> . Microscopie électronique des — — dans la rage des rues. Méthode de repérage et d'examen des coupes histologiques en microscopie électronique.	1
<i>Cortisone</i> . Action de la — et d'un extrait cortico-surrénal sur le choc anaphylactique passif du cobaye.	187
— Effet du plasma prélevé chez des cobayes traités par la — sur des cultures <i>in vitro</i> de fibroblastes et de macrophages.	193
<i>Corynebactéries</i> . Corpuscules métachromatiques des —.	657
— <i>Corynebacterium endocarditis</i> . Etude de 2 souches.	686

<i>Croissance tissulaire. Méthode photométrique d'évaluation de</i> — — <i>in vitro</i> en culture sur membranes plastiques.	32
<i>Cuivre. Voir Sels de —.</i>	
<i>Dihydrostreptomycine. Voir Polyosides.</i>	
<i>Eau. Adsorption de l'— par des bactéries.</i>	562
<i>Encre de Chine. Activité granulopexique du système réticulo-endo-</i> <i>thélial par l'injection intraveineuse d' — — chez les diverses</i> <i>espèces animales. Modifications de la coagulation du sang</i> <i>in vitro.</i>	164
<i>Endocardite. Corynebacterium endocarditis. Etude de 2 souches.</i>	686
<i>Erythrocytes. Voir Sels de cuivre.</i>	
<i>Euflavine. Voir Acriflavine.</i>	
<i>Fièvre Q. Diagnostic d'un cas de — par l'examen cytologique des</i> <i>expectorations.</i>	109
<i>Hamster. Voir Virus fixe (souche Pasteur).</i>	
<i>Hémagglutination, hémolyse et congglutination « passives ».</i>	650
<i>Hémoglobinurie de la Babesiose des souris.</i>	608
<i>Hémolyse. Phénomène de l'— conditionnée dans la tuberculose.</i>	149
<i>Infections associées. Voir Virus grippal.</i>	
<i>Lapin. Voir Virus fixe (souche Pasteur).</i>	
<i>Lépromme humain. Voir Bacille acido-résistant.</i>	
<i>Lésions testiculaires chez le cobaye.</i>	48
<i>Leucocytaire. Inhibition de la migration — in vitro par un</i> <i>polyoside capsulaire de Torulopsis neoformans.</i>	674
<i>Levures. Voir Acriflavine.</i>	
<i>Membranes plastiques. Voir Croissance tissulaire.</i>	
<i>Microflore autotrophe de la lagune d'Abidjan (Côte d'Ivoire),</i> <i>oxydant le soufre et ses composés.</i>	347
<i>Microscopie électronique. Voir Corps de Negri.</i>	
<i>Mononucléose infectieuse. Anticorps incomplets au cours de</i> <i>la — —.</i>	34
<i>Morve humaine. Deux cas de morve chronique humaine traités</i> <i>par les sulfamides.</i>	98
<i>Mosaïque du tabac. Réaction allergique d'une variété de Nicotiana</i> <i>tabacum vis-à-vis de la — —.</i>	300
<i>Mycobacterium tuberculosis. La gélose-gélatine de Legroux, milieu</i> <i>de culture de — —.</i>	227
<i>— — Présence d'un facteur favorisant la croissance des champi-</i> <i>gnons levuriformes du genre Candida.</i>	107
<i>— — Titrage du — — aux antibiotiques insolubles dans l'eau.</i>	507
<i>Néomycine. Le traitement par la — des souris tuberculisées est-il</i> <i>efficace ?</i>	318
<i>Nitrates. Mécanisme de la réduction des — en nitrites par</i> <i>quelques germes isolés du sol. Mise au point d'un dosage biolo-</i> <i>gique des nitrates.</i>	293

<i>Nutrition cellulaire</i> . Conditions de — — <i>in vitro</i> en culture sans support plasmatique. Rôle des fractions micro- et macromoléculaires.	9
OËuf. Voir <i>Virus vaccinal</i> .	
— de cane. Emploi de l' — — pour la préparation des antigènes du groupe psittacose-lymphogranulomatose vénérienne en vue de la déviation du complément.	217
Para-amino-salicylate de phényle. Voir <i>PAS</i> .	
<i>PAS</i> . Nouveau dérivé du —, le para-amino-salicylate de phényle ou FR7. Activité tuberculostatique <i>in vitro</i> et chez la Souris.	407
Pénicilline. Actions de la — et de la Streptomycine sur le catabolisme des ribonucléotides chez une bactérie aérobie, <i>Staphylococcus albus</i>	631
— Voir <i>Ribonucléate de Sodium</i> .	
Phage de Lisbonne. Voir <i>Calcium</i> .	
Plantes. Voir <i>Sodium</i> .	
Plasma. Effet du — prélevé chez des cobayes traités par la cortisone sur des cultures <i>in vitro</i> de fibroblastes et de macrophages.	193
Poliomyélite. Voir <i>Anticorps antipoliomyélitiques</i> .	
Polyosides. Comparaison des quantités de — extraites de souches sensibles et résistantes à la Dihydrostreptomycine chez certaines bactéries à Gram-négatif.	523
Porcs. <i>Salmonella</i> dans les ganglions mésentériques de —.	236
Poulet. Voir <i>Antityphoïdique</i> (séro-protection).	
Protéases gastriques. Analyse électrophorétique de deux — — cristallisées.	111
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> . Voir <i>Streptomycino-résistance</i> .	
Psittacose-lymphogranulomatose. Emploi de l'œuf de cane pour la préparation des antigènes du groupe — — vénérienne en vue de la déviation du complément.	217
Rage clinique expérimentalement constatée chez un lapin domestique.	311
— Voir <i>Auréomycine</i> .	
— Voir <i>Vaccinations antirabiques</i> .	
— des rues. Voir <i>Corps de Negri</i> .	
Rat. Voir <i>Bichlorhydrate d'histamine</i> .	
— Voir <i>Cancer expérimental</i> .	
Rayons X. Induction, par les —, de la production d'un bactériophage chez <i>B. megatherium</i> lysogène.	389
Réductose. Influence de la — sur le comportement des bactéries aérobies vis-à-vis des antibiotiques.	231
Ribonucléate de Sodium. Influence du — — sur la croissance d'une bactérie en présence et en l'absence de Pénicilline.	634
Salicylate. Voir <i>Benzoate</i> .	
<i>Salmonella</i> dans les ganglions mésentériques de porcs.	236

<i>Salmonella paratyphi</i> B ₂ dans une pyélonéphrite secondaire à une toxi-infection alimentaire.	680
— Présence à Saïgon de — <i>heidelberg</i> (Habs).	683
— Un bacille coliforme ayant l'antigène somatique IX de — <i>typhi</i>	685
— <i>typhi</i> . Présence de deux types bactériophagiques dans une culture de —	245
Sang. Voir <i>Encre de Chine</i> .	
Sels de cuivre. Action sur les Erythrocytes.	572
<i>Shigella boydii</i> . Trois souches de — — apparentées à un type précédemment décrit.	234
Sodium. Présence et rôle du — dans les plantes.	121
Sol. Nouvelle méthode de détermination du pouvoir nitrificateur d'une terre.	667
Souris. Hémoglobinurie de la Babesiose des —.	608
— Voir PAS.	
— Voir <i>Virus fixe</i> (souche Pasteur).	
<i>Spherophorus glycolyticus</i> . Association de — — et de <i>Ristella</i> <i>pseudo-insolita</i> dans un pus pleural.	229
<i>Staphylococciques</i> (agglutinogènes). Influence du milieu de culture sur la production des agglutinogènes —.	224
<i>Streptomycine</i> . Actions de la Pénicilline et de la — sur le catabo- lisme des Ribonucléotides chez une Bactérie aérobie, <i>Staphylo-</i> <i>coccus albus</i>	631
— Avitaminose et streptomycinothérapie dans la tuberculose pul- monaire.	672
<i>Streptomycino-résistance</i> d'une souche de <i>Pseudomonas aerugi-</i> <i>nosa</i> isolée d'un liquide céphalo-rachidien.	105
Sulfamides. Voir <i>Morve humaine</i> .	
<i>Terramycine</i> . Action de la — sur la lyse bactériophagique.	221
— Action sur la flore intestinale aérobie du cobaye et du chat.	352
<i>Thiorhodacées</i> . Conditions écologiques et conditions de laboratoire dans le cas des —.	441
<i>Thyroïdienne</i> (sécrétion). Influence de la sécrétion — sur la crois- sance des tumeurs. Action de la thyroïdectomie sur la croissance du cancer expérimental greffé du Rat blanc.	357
Toxine de <i>Cl. chauvœi</i> . Extraction à partir des corps microbiens.	90
<i>Tuberculose</i> . Action d'un antihistaminique de synthèse sur la — expérimentale du cobaye.	118
— Action tuberculostatique de la viomycine <i>in vitro</i> et <i>in vivo</i>	158
— Comparaison de l'activité antituberculeuse de la néomycine, viomycine et streptomycine.	320
— 40 souches de <i>Candida</i> isolées à Saïgon de l'expectoration de tuberculeux.	676
— Le phénomène de l'hémolyse conditionnée dans la —.	149
— Tuberculose expérimentale du cobaye par inoculation intra- ganglionnaire.	314

<i>Tuberculose</i> . Valeur de la vaccination antituberculeuse par le BCG.	126
<i>Ultra-violet</i> . Conditions de l'efficacité inductrice du rayonnement — chez une bactérie lysogène.	370
<i>Vaccination antidiphthérique</i> . La — — peut-elle éveiller la virulence d'un bacille de Koch latent dans l'organisme ?	312
— <i>antituberculeuse</i> . Voir <i>BCG congelé-desséché</i> .	
— — par le BCG. Considérations sur sa valeur (voir aussi <i>Tuberculose</i>).	126
<i>Vaccinations antirabiques</i> à l'Institut Pasteur en 1950.	72
<i>Venin de Vipera aspis</i> . Action du — — — sur la morphologie des fibroblastes d'embryon de poulet cultivé <i>in vitro</i>	642
— — <i>ursinii</i>	361
<i>Venins</i> . Recherches sur la pollution des — de serpent par les anaérobies et leur stérilisation.	665
<i>Vibrien cholérique</i> . Utilisation d'un test biochimique complémentaire pour l'identification du — —.	343
<i>Vibrions</i> . Voir <i>Choléra</i> .	
<i>Viomycine</i> . Action tuberculostatique de la — <i>in vitro</i> et <i>in vivo</i>	158
<i>Virus coxsackie</i> . La « cœlogénèse » névraïque du — —.	260
— — Symbiose entre le type B encéphalitogène du — — et celui de la fièvre aphteuse neurotrope.	210
— — Y a-t-il possibilité de symbiose entre le — — et celui de l'encéphalite Theiler ?	207
<i>Virus de l'encéphalite Theiler</i> . Y a-t-il possibilité de symbiose entre le virus coxsackie et celui de l'— — ?	207
— <i>de Newcastle</i> . Action des pressions très élevées sur le — —. I. — Dissociation du pouvoir infectieux et de l'héماغglutination.	340
— <i>fixe</i> (souche Pasteur). Virulence par voie sous-cutanée du — — — — pour la souris, le hamster, le cobaye et le lapin. . . .	213
— <i>grippal</i> . Influence favorisante du — — sur les infections associées.	394
— <i>rabique</i> . Voir <i>Auréomycine</i> .	
— <i>vaccinal</i> . Courbe de croissance du — — dans la membrane chorio-allantoïdienne de l'œuf.	77

TABLE ALPHABÉTIQUE PAR NOMS D'AUTEURS

DU TOME 81

Notices nécrologiques.

† Paul COURMONT (1871-1951).	206
† Georges LOISEAU (1872-1950).	365

ALADAME (N.). — Recherches sur <i>Acuformis filamentosus</i>	339
— Voir PRÉVOT (A.-R.).	
AMBRUS (C.). — Voir JACOB (J.).	
AMBRUS (J.). — Voir JACOB (J.).	
ANDREJEW (A.). — Effet du benzoate et du salicylate sur la respiration des bacilles tuberculeux virulents et avirulents.	550
ANSARI (M.) et MINOU (M.). — Deux cas de morve chronique humaine traités par les sulfamides.	98
APPERT (J.). — Voir WINOGRADSKY (Hélène).	
ASSELINEAU (J.). — Sur la variation de la teneur en lipides du bacille tuberculeux, en fonction de l'âge de la culture.	306
ATANASIU (P.). — Voir LÉPINE (P.).	
ATANASIU (P.), BARBU (E.) et BASSET (J.). — Action des pressions très élevées sur le virus de Newcastle. — I. Dissociation du pouvoir infectieux et de l'hémagglutination.	340
BAILLY (J.). — Voir REMLINGER (P.).	
BARBER (Mary). — Voir VOISIN (G.).	
BARBER (Mary) et DELAUNAY (A.). — Effet du plasma prélevé chez des cobayes traités par la cortisone sur des cultures <i>in vitro</i> de fibroblastes et de macrophages.	193
BARBU (E.). — Voir ATANASIU (P.).	
BARSKI (G.) et MANIGault (P.). — Méthode photométrique d'évaluation de croissance tissulaire <i>in vitro</i> en culture sur membranes plastiques.	33
— , MAURIN (J.), WIELGOSZ (G.) et LÉPINE (P.). — Conditions de nutrition cellulaire <i>in vitro</i> en culture sans support plasmatique. Rôle des fractions micro- et macromoléculaires.	9
BASSET (J.). — Voir ATANASIU (P.).	
BAY (M ^{me}). — Voir POCHON (J.).	

- BAZIN (Suzanne). — Voir LAMBIN (Suzanne).
- BEERENS (H.). — Voir TARDIEUX (P.).
- et GUILLAUME (J.). — Variabilité de la production et de la destruction de l'acétyl-méthyl-carbinol (acétoïne) par certaines bactéries anaérobies sporulées. 93
- BENACERRAF (B.). — Voir BIOZZI (G.).
- Voir GRABAR (P.).
- BÉQUIGNON (R.) et VIALAT (Ch.). — Les vaccinations antirabiques à l'Institut Pasteur en 1950 72
- BERGE (Ch.). — Voir BROUSTET (P.).
- BERTRAND (Gabriel). — Recherches sur la présence générale et sur le rôle probable du sodium dans les plantes. 121
- BEUMER (J.) et BEUMER-JOCHMANS (M.-P.). — Les exigences en calcium du phage de Lisbonne. 489
- BEUMER-JOCHMANS (M.-P.). — Voir BEUMER (J.).
- BIER (Otto). — Observations préliminaires sur l'hémagglutination, l'hémolyse et la congutination « passives ». 650
- BIOZZI (G.). — Voir GRABAR (P.).
- , BENACERRAF (B.), MENE (G.) et HALPERN (B.-N.). — Etude quantitative de l'activité granulopexique du système réticulo-endothélial par l'injection intraveineuse d'encre de Chine chez les diverses espèces animales. — II. Relations entre les modifications de la coagulation du sang *in vitro* sous l'effet de l'injection intraveineuse de doses croissantes d'encre de Chine et sa répartition dans l'organisme. 164
- BOQUEL (G.). — Voir KAUFFMANN (J.).
- BORDET (Paul) et QUERSIN-THIRY (Lise). — Influence favorisante du virus grippal sur les infections associées. 394
- BRETON (C.). — Voir CUZIN (J.).
- BRIOT (M.). — Voir OVARY (Z.).
- BRISOU (J.). — Mise en évidence des collagénases microbiennes. 117
- Voir BROUSTET (P.).
- et MOUSTARDIER (G.). — Contribution à l'étude de la flore microbienne des caries dentaires. 355
- BROUSTET (P.), BRISOU (J.) et BERGE (Ch.). — *Corynebacterium endocarditis*. Etude de deux souches. 686
- BRYGGO (E.-R.). — Association de *Spherophorus glycolyticus* et de *Ristella pseudo-insolita* dans un pus pleural. 229
- 40 souches de *Candida* isolées à Saïgon de l'expectoration de tuberculeux. 676
- Streptomycino-résistance d'une souche de *Pseudomonas aeruginosa* isolée d'un liquide céphalo-rachidien. 105
- Voir SEYS (R.).
- et SEYS (R.). — Présence dans les extraits de culture de *Mycobacterium tuberculosis* d'un facteur favorisant la

croissance des champignons levuriformes du genre <i>Candida</i>	107
BUTTIAUX (R.), GAUMONT (R.) et MOREL (P.). — <i>Salmonella</i> dans les ganglions mésentériques de porcs.	236
— et ROULIN (G.). — <i>Salmonella paratyphi B²</i> dans une pyélonéphrite secondaire à une toxi-infection alimentaire.	680
CALS (M ^{me} S.). — Voir RIST (N.).	
CARRÈRE (L.) et ROUX (J.). — Action de la terramycine sur la flore intestinale aérobie du cobaye et du chat.	352
CHAIGNEAU-ERHARD (M ^{me}). — Voir LEVADITI (C.).	
CHALEIL (M.). — Voir GRABAR (P.).	
CHAMSY (Mir) et RAYNAUD (M.). — Extraction de la toxine de <i>Cl. chauvoei</i> à partir des corps microbiens.	90
CHATELAIN (R.). — Voir SECOND (L.).	
CHENET (M ^{lle} C.). — Voir GERNEZ-RIEUX (Ch.).	
CIVATTE (A.). — Voir GASTINEL (P.).	
COLETSOS (P.-J.), LAROCHE (M ^{lle} M.-J.) et ORIOU (M ^{lle} E.). — Le titrage du <i>Mycobacterium tuberculosis</i> aux antibiotiques insolubles dans l'eau.	507
COUTEL (Y.). — Voir GASTINEL (P.).	
COISSANT (O.). — Voir LÉPINE (P.).	
CUZIN (J.), SCHWARTZ (D.) et BRETON (C.). — Réaction allergique d'une variété de <i>Nicotiana-tabacum</i> vis-à-vis de la mosaïque du tabac.	300
D'ARGENT (M.), VIALIER (J.) et GUINET (E.). — Influence de la sécrétion thyroïdienne sur la croissance des tumeurs. — II. Action de la thyroïdectomie sur la croissance du cancer expérimental greffé du rat blanc (souche T. de Guérin).	357
DEINSE (F. van). — Considérations sur la valeur de la vaccination antituberculeuse par le BCG.	126
DELAPORTE (Berthe), GIRARD (H.), JACOBELLI (Gisèle) et LEMOIGNE (M.). — Une forme atypique de <i>Bacillus megatherium</i> var. <i>Capillatum</i> nov. var.	113
DELAUNAY (A.). — Voir BARBER (Mary). — Voir VOISIN (G.).	
DEMUYLDER (Ch.). — Voir RODHAIN (J.).	
DI FINE-LASFARGUES (J.). — Voir LASFARGUES (E.).	
DROUHET (E.) et SEGRETAIN (G.). — Inhibition de la migration leucocytaire <i>in vitro</i> par un polyside capsulaire de <i>Torulopsis (Cryptococcus) neoformans</i>	674
DUCHON (L.). — Méthode apportant une certaine précision pour la mesure de l'activité d'un antibiotique.	102
DUCREST (P.). — Voir JUDE (A.).	
DUGUY (R.). — Recherches sur le venin de <i>Vipera ursinii</i>	361
EDLINGER (E.). — Etude de l'action de la chloromycétine sur la multiplication du bactériophage.	514

- EDLINGER (E.) et FAGUET (M.). — Antibiotiques et lyse bactériophagique. — IX. L'action de la terramycine sur la lyse bactériophagique, étudiée au microbiophotomètre. 221
- EYQUEM (A.) et PODLIACHOUK (L.). — Les anticorps incomplets au cours de la mononucléose infectieuse. 64
- FAGUET (M.). — Voir EDLINGER (E.).
- FOUSSEREAU (S.). — Voir SARTORY (R.).
- FRAPPIER (A.). — Voir PAVILANIS (V.).
- FREIRE (S. AMERICANO), RIST (Noël) et GRUMBACH (Françoise). — Un nouveau dérivé du PAS, le *para*-amino-salicylate de phényle ou FR7. Activité tuberculostatique *in vitro* et chez la Souris. 407
- GALLUT (J.). — Sur les modifications *in vivo* des caractères de quelques vibrions isolés des eaux en période d'épidémie de choléra. 275
- Voir PARIS (J.).
- GASTINEL (P.), COUTEL (Y.) et CIVATTE (A.). — Contribution à l'étude de la tuberculose expérimentale du cobaye par inoculation intraganglionnaire. 314
- GAUMONT (R.). — Voir BUTTIAUX (R.).
- GERNEZ-RIEUX (Ch.) et TACQUET (A.). — Le phénomène de l'hémolyse conditionnée dans la tuberculose. 149
- TACQUET (A.) et CHENET (M^{lle} C.). — Action tuberculostatique de la viomycine *in vitro* et *in vivo*. 158
- GIRARD (H.). — Voir DELAPORTE (Berthe).
- GIUNTINI (J.). — Voir KITAMOTO (O.).
- GORET (P.). — Voir PRÉVOT (A.-R.).
- GOVAERTS (A.). — Influence du calcium sur l'atténuation du bacille du charbon par la méthode de Pasteur. 424
- GRABAR (P.), BENACERRAF (B.) et BIOZZI (G.) [avec la collaboration technique de M. CHALEIL]. — Action de la cortisone et d'un extrait cortico-surrénal sur le choc anaphylactique passif du cobaye. 187
- GRABAR (M^{me} J.) et LE MINOR (M^{me} S.). — Test de séro-protection antityphoïdique sur l'embryon de poulet. 528
- GRELET (N.). — Le déterminisme de la sporulation de *Bacillus megatherium*. — I. L'effet de l'épuisement de l'aliment carboné en milieu synthétique. 430
- GRUMBACH (M^{me} F.). — Voir FREIRE (S. AMERICANO).
- et RIST (N.). — Comparaison de l'activité antituberculeuse de la néomycine, de la viomycine et de la streptomycine. 320
- GUILLAUME (J.). — Voir BEERENS (H.).
- GUINET (E.). — Voir DARGENT (M.).
- HALPERN (B.-N.). — Voir BIOZZI (G.).
- HAMON (Y.). — Voir NICOLLE (Pierre).
- HUET (M.). — Voir NICOLLE (Pierre).

- IMELIK (B.). — Etude sur l'adsorption de l'eau par des bactéries. 562
- JACOB (J.), AMBRUS (J.) et AMBRUS (C.). — Effets analgésiques des administrations répétées de bichlorhydrate d'histamine chez le Rat. 281
- JACOBELLI (M^{lle} G.). — Voir DELAPORTE (M^{lle} B.).
- JACQUET (J.) et PRÉVOT (A.-R.). — Recherches sur le botulisme équin expérimental. 334
- JOUBERT (L.). — Voir PRÉVOT (A.-R.).
- JUDE (A.), NICOLLE (P.) et DUCREST (P.). — Sur la présence simultanée de deux types bactériophagiques (D₁ et D₆) dans une culture de *Salmonella typhi*. 245
- JULLIEN (W.). — Voir RIST (N.).
- KAUFFMANN (J.). — Contribution à l'étude du mécanisme de la réduction des nitrates en nitrites par quelques germes isolés du sol. Mise au point d'un dosage biologique des nitrates. 293
- et BOQUEL (G.). — Nouvelle méthode de détermination du pouvoir nitrificateur d'une terre. 667
- KITAMOTO (O.), RIST (N.) et GIUNTINI (J.). — Augmentation du volume du bacille de Koch en présence d'acide *p*-aminosalicylique (PAS). 328
- LAMBIN (M^{lle} S.), BAZIN (M^{lle} S.) et SALAS (M^{lle} A.). — Action des sels de cuivre sur les Erythrocytes. 572
- LAROCHE (M^{lle} M.-J.). — Voir COLETOS (P.-J.).
- LASFARGUES (E.) et DI FINE-LASFARGUES (J.). — Action du venin de *Vipera aspis* sur la morphologie des fibroblastes d'embryon de poulet cultivé *in vitro*. 642
- LATARJET (R.). — Induction, par les rayons X, de la production d'un bactériophage chez *B. megatherium* lysogène. 389
- LATTERRADE (Colette) et MACHEBOEUF (Michel). — Actions de la Pénicilline et de la Streptomycine sur le catabolisme des ribonucléotides chez une bactérie aérobie, *Staphylococcus albus*. 631
- LATTERRADE-AUGER (Colette) et MACHEBOEUF (Michel). — Influence du ribonucléate de sodium sur la croissance d'une bactérie en présence et en l'absence de Pénicilline. 634
- LE MINOR (M^{me} S.). — Voir GRABAR (M^{me} J.).
- LEMOIGNE (M.). — Voir DELAPORTE (M^{lle} B.).
- LÉPINE (P.). — Voir BARSKI (G.).
- et ATANASIU (P.). — Sur la virulence par voie sous-cutanée du virus fixe (souche Pasteur) pour la souris, le hamster, le cobaye et le lapin. 213
- et CROISSANT (O.). — Microscopie électronique des corps de Negri dans la rage des rues. Méthode de repérage et d'examen des coupes histologiques en microscopie électronique. 1

- LÉPINE (P.), SAUTTER (V.) et REINIE (L.). — Emploi de l'œuf de cane pour la préparation des antigènes du groupe psittacose-lymphogranulomatose vénérienne en vue de la déviation du complément. 217
- WIELGOSZ (G.) et REINIE (L.). — Courbe de croissance du virus vaccinal dans la membrane chorio-allantoïdienne de l'œuf. 77
- LEVADITI (C.). — La « coelogénèse » névraxique du virus Cocksackie. 260
- et CHAIGNEAU-ERHARD (M^{me}). — Le traitement par la néomycine des souris tuberculisées est-il efficace ? 318
- et VAISMAN (A.). — Symbiose entre le type B encéphalitogène du virus coxsackie et celui de la fièvre aphteuse neurotrophe. 210
- — Y a-t-il possibilité de symbiose entre le virus coxsackie et celui de l'encéphalite Theiler ? 207
- LUTZ (A.). — Voir SARTORY (A.).
- LWOFF (A.). — Conditions de l'efficacité inductrice du rayonnement ultra-violet chez une bactérie lysogène. 370
- MACARY (J.). — Des corpuscules métachromatiques des Corynebactéries. 657
- MACHEBOEUF (Michel). — Voir LATERRADE (Colette).
- Voir LATERRADE-AUGER (Colette).
- MALGRAS (J.). — Voir MEYER (J.).
- Voir SARTORY (R.).
- MANIGAULT (P.). — Voir BARSKI (G.).
- MARCOVICH (H.). — Action de l'acriflavine sur les levures. — VIII. Détermination du composant actif et étude de l'euflavine. 452
- MARIE-SUZANNE (Sœur), SOHIER (R.) et NOËL (R.). — Etude comparative d'un bacille acido-résistant isolé par culture d'un lépreux humain et du bacille de Hansen. 238
- MAURIN (J.). — Voir BARSKI (G.).
- MAZUREK (C.). — Voir PRÉVOT (A.-R.).
- MENE (G.). — Voir BIOZZI (G.).
- MERCIER (P.). — Voir PILLET (J.).
- MEYER (J.). — Voir SARTORY (R.).
- MALGRAS (J.) et POTIN (J.-C.). — Influence de la réductose sur le comportement des bactéries aérobies vis-à-vis des antibiotiques. 231
- MILHAUD (G.). — Analyse électrophorétique de deux protéases gastriques cristallisées. 111
- MINOU (M.). — Voir ANSARI (M.).
- MOREL (P.). — Voir BUTTIAUX (R.).
- MOUREAU (M.). — Recherches sur *Catenabacterium cateniforme* et sur son pouvoir pathogène. 337

- MOUSTARDIER (G.). — Voir BRISOU (J.).
- NICOLLE (Pierre). — Voir JUDE (André).
- NICOLLE (Pierre) et HAMON (Yves). — Recherches sur les facteurs qui conditionnent l'appartenance des bacilles paratyphiques B aux différents types bactériophagiques de Felix et Callow (troisième mémoire). 614
- RITA (G.) et HUET (M.). — Démonstration par l'épreuve des bactériophages Vi d'une analogie physiologique entre les antigènes Vi présents chez des espèces bactériennes différentes. 473
- NOËL (R.). — Voir MARIE-SUZANNE (Sœur).
- OPPERS (V.-M.). — A propos de quelques cas de réactions locales dites « accélérées », consécutives à la vaccination par voie intradermique avec du BCG congelé-desséché. 43
- ORIOU (M^{lle} E.). — Voir COLETSOS (P.-J.).
- ORTA (M^{me} B.). — Voir PILLET (J.).
- OVARY (Z.) et BRIOT (M.). — Nouvelle méthode de dosage de l'anticorps anaphylactique et son rapport avec l'azote de l'anticorps. 670
- OYE (E. van). — Au sujet d'un bacille coliforme ayant l'antigène somatique IX de *Salmonella typhi*. 685
- PARIS (J.) et GALLUT (J.). — Utilisation d'un test biochimique complémentaire pour l'identification du vibron cholérique. 343
- PAVILANIS (V.) et FRAPPIER (A.). — Etude de la distribution des anticorps neutralisant la souche Lansing et de l'incidence de la poliomyélite au cours d'une épidémie hivernale dans une population isolée. 583
- PIÉCHAUD (D.) et RUBINSTEIN (M^{me} S.). — Trois souches de *Shigella boydii* apparentées à un type précédemment décrit. 234
- PILLET (J.), MERCIER (P.) et ORTA (M^{me} B.). — Influence du milieu de culture sur la production des agglutinogènes staphylococciques. 224
- POCHON (J.) et BAY (M^{me}). — La cellulolyse bactérienne. Importance des techniques pour son étude. 179
- PODLIACHOUK (L.). — Voir EYQUEM (A.).
- POTIN (J.-C.). — Voir MEYER (J.).
- PRÉVOT (A.-R.). — Voir JACQUET (J.).
- Recherches sur la pollution des venins de serpent par les anaérobies et leur stérilisation. 665
- GORET (P.), JOUBERT (L.), TARDIEUX (P.) et ALADAME (N.). — Recherches bactériologiques sur une infection purulente d'allure actinomycosique chez le chat. 85
- MAZUREK (C.) et TARDIEUX (P.). — Recherches comparatives sur *Actinobacterium cellulitis* et *Actinobacterium baudeti*. 173
- QUERSIN-THIRY (Lise). — Voir BORDET (Paul).

- RAYNAUD (M.). — Voir CHAMSY (Mir).
- REINIE (L.). — Voir LÉPINE (P.).
- REMLINGER (P.) et BAILLY (J.). — Action de l'auréomycine sur le virus rabique (deuxième note). 83
- — La vaccination antidiphthérique peut-elle éveiller la virulence d'un bacille de Koch latent dans l'organisme ? 312
- — Rage clinique expérimentalement constatée chez un lapin domestique. 311
- RENOUX (G.). — Traitement de la Brucellose (*Br. melitensis*) expérimentale du cobaye par le BAL (2,3 dimercaptopropanol ou dithioglycérol) seul ou associé au chloramphénicol ou à l'auréomycine. 541
- RIST (N.). — Voir FREIRE (S. AMERICANO).
- Voir GRUMBACH (M^{me} F.).
- Voir KITAMOTO (O.).
- CALS (M^{me} S.) et JULLIEN (W.). — Aspects variés de la sensibilité du bacille tuberculeux à la para-acétylbenzaldéhyde-thiosemicarbazone (TbI) en milieu de Youmans. 324
- RITA (G.). — Voir NICOLLE (Pierre).
- RODHAIN (J.) et DEMUYLDER (Ch.). — L'hémoglobininurie de la Babesiose des Souris. 608
- ROULIN (G.). — Voir BUTTIAUX (R.).
- ROUX (J.). — Voir CARRÈRE (L.).
- RUBINSTEIN (M^{me} S.). — Voir PIÉCHAUD (D.).
- SALAS (M^{lle} A.). — Voir LAMBIN (M^{lle} S.).
- SARTORY (R.), MALGRAS (J.), TOULLIER (J.) et VESCHAMBRE (R.). — Un nouveau milieu pour la culture des anaérobies. . . 88
- MEYER (J.), LUTZ (A.) et FOUSSEREAU (S.). — Avitaminose et streptomycinothérapie dans la tuberculose pulmonaire. . 672
- SAUTTER (V.). — Voir LÉPINE (P.).
- SCHWARTZ (D.). — Voir CUZIN (J.).
- SECOND (L.) et CHATELAIN (R.). — La gélose-gélatine de Legroux, milieu de culture de *Mycobacterium tuberculosis*. . . 227
- SEGRETAIN (E.). — Voir DROUHET (E.).
- SERVANT (J.). — Comparaison des quantités de polyosides extraites de souches sensibles et résistantes à la dihydrostreptomycine chez certaines bactéries à Gram-négatif. 523
- SEYS (R.). — Voir BRYGOO (E. R.).
- et BRYGOO (E. R.). — Présence à Saïgon de *Salmonella heidelberg* (Habs). 683
- SOHIER (R.). — Voir MARIE-SUZANNE (Sœur).
- STEINMANN (J.). — Diagnostic d'un cas de fièvre Q par l'examen cytologique des expectorations. 109
- TACQUET (A.). — Voir GERNEZ-RIEUX (Ch.).
- TARDIEUX (P.). — Voir PRÉVOT (A.-R.).

- TARDIEUX (P.) et EERENS (H.). — Contribution à l'étude d'une espèce anaérobie *Bifidibacterium cornutum* (Distaso) P. 1939. 97
- TATAKI (H.). — Voir VINZENT* (R.).
- TISON (F.). — Etude de l'action d'un antihistaminique de synthèse sur la tuberculose expérimentale du cobaye. 118
- TOUILLIER (J.). — Voir SARTORY (R.).
- VAISMAN (A.). — Voir LEVADITI (C.).
- VESCHAMBRE (R.). — Voir SARTORY (R.).
- VIALAT (Ch.). — Voir BÉQUIGNON (R.).
- VIALIER (J.). — Voir DARGENT (M.).
- VINZENT (R.) et TATAKI (H.). — Etude sur *Actinobacterium meyeri* P. 1938. 92
- VOISIN (G.), DELAUNAY (A.) et BARBER (Mary). — Sur des lésions testiculaires provoquées chez le cobaye par iso- et auto-sensibilisation. 48
- WIELGOSZ (G.). — Voir BARSKI (G.).
— Voir LÉPINE (P.).
- WINOGRADSKY (M^{me} H.). — Etude comparée des conditions écologiques et des conditions de laboratoire dans le cas des *Thiorhodacées*. 441
- et APPERT (J.). — Quelques observations sur la microflore autotrophe de la lagune d'Abidjan (Côte d'Ivoire), oxydant le soufre et ses composés. 347

Le Gérant : G. MASSON.